

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA MULTIRRESISTENTES E SUAS
ASSOCIAÇÕES COM A SAÚDE ANIMAL E HUMANA**

Lucas Schaefer Batista

Pelotas, 2026

Lucas Schaefer Batista

***Staphylococcus* Coagulase Positiva Multirresistentes e suas Associações com
a Saúde Animal e Humana**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Saúde Única)

Orientadora: Patrícia da Silva Nascente
Coorientadora: Helenice Gonzalez de Lima

Pelotas, 2026

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

B333s Batista, Lucas Schaefer

Staphylococcus coagulase positiva multirresistentes e suas associações com a saúde animal e humana [recurso eletrônico] / Lucas Schaefer Batista ; Patrícia da Silva Nascente, orientadora ; Helenice Gonzalez de Lima, coorientadora. — Pelotas, 2026.

141 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2026.

1. Mastite bovina. 2. Saúde Única. 3. Bovinos leiteiros. 4. Zooantroponose. 5. Epidemiologia. I. Nascente, Patrícia da Silva, orient.

II. Lima, Helenice Gonzalez de, coorient. III. Título.

CDD 636.214089819

Lucas Schaefer Batista

Staphylococcus Coagulase Positiva Multirresistentes e suas Associações com a
Saúde Animal e Humana

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 24/02/2026

Banca examinadora:

Profa. Dra. Patrícia da Silva Nascente (Orientadora)

Doutora em Ciências pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Natacha Deboni Cereser

Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Profa. Dra. Fernanda de Rezende Pinto

Doutora em Medicina Veterinária Preventiva pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Profa. Dra. Amanda de Souza da Motta

Doutora em Ciências pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Agradecimentos

Primeiramente à Deus. Ele quem guia todos os passos, levando-nos onde precisamos ir. É o caminho, a verdade e a vida, deu-me força durante essa jornada, ouviu e atendeu em tempo oportuno todas as minhas orações. Que todas as obras executadas através de minhas sejam para glorificá-lo.

À Nossa Senhora, que verdadeiramente passou a frente, intercedeu e intercede todo dia incontáveis vezes diante de situações de resoluções impossíveis. Amparou-me com sua ternura maternal nas aflições, cobriu-me com seu manto protetor no perigo e enfrentou ante mim as peleias e dragões que surgiram na caminhada.

À minha família, em especial a meu irmão Mateus, cujos conselhos sensatos e objetivos sempre me permitiram enxergar melhor as situações e tomar decisões mais assertivas, e meus pais Cristiano e Stephanie, que sempre me deram força, amparo e segurança em todas as jornadas, são meus exemplos de dignidade, ética e caráter e me inspiram todo dia no ser, pensar e agir na vida pessoal e profissional.

Às minhas orientadoras Patrícia e Helenice, pela amizade cultivada ao longo dos anos, pela oportunidade do mestrado, pelas orientações técnicas sempre pautadas pela ética, competência e respeito, e pela parceria cotidiana na rotina. Foram inúmeros desafios ao longo da jornada, que somente a confiança mútua, o empenho e a parceria permitiram superar cada um deles.

À professora Giselda Maria Pereira, quem além de ensinar brilhantemente estatística, generosamente fez em tempo recorde toda estatística desse trabalho, e assim permitiu que ele fosse colocado no papel.

À Médica Veterinária Andréia da Silveira Lucas, extensionista da EMATER/RS, quem nos encaminhou para vários produtores, e assim permitiu que a pesquisa fosse viável. Também através dela, que os resultados desse trabalho puderam ser revertidos imediatamente na melhoria das condições sanitárias e produtivas dos produtores em situação de vulnerabilidade socioeconômica, que tanto necessitavam.

À equipe do LIPOA, em especial às residentes Kelly e Larissa, e as professoras Rita e Natacha, pelo convívio cotidiano, parceria no trabalho de bancada e amizade construída ao longo desses dois anos.

À minha amiga e colega de longa data, Médica Veterinária Milena Miolo Antunes, que sempre abriu as portas do HCV e sempre atendeu prontamente as demandas do projeto.

Às estagiárias e colaboradoras do projeto Maria Gabriela, Luisa, Maria Eduarda, Beatriz, Isabel Luiza, Patrícia e Laís. Vocês e a Larissa (residente) foram minhas grandes parceiras para enfrentar coletas com sol a pino, chuva, lama, temperaturas negativas e campos congelados, estradas rurais de difícil acesso, levantar na madrugada, estradas sob neblina sem nenhuma visibilidade e todas as adversidades possíveis. E no laboratório, mesmo com muitos afazeres da faculdade, vocês foram meus braços e pernas, muitas vezes entrando noites e madrugadas na bancada. Muito obrigado pelo empenho de cada uma de vocês, desejo sinceramente que continuem a caminhada de vocês, pois não tenho dúvida da competência, coragem e garra de cada uma.

Às técnicas administrativas Silvia Ladeira (Faculdade de Veterinária) e Lizângela Ferreira (Faculdade de Odontologia), pelas cepas cedidas.

À equipe do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ/UFPEL), em especial aos professores Fábio, Fernanda e Fernando, pela parceria e assessoria nos mais diversos assuntos.

Aos colegas do Instituto de Biologia as Farmacêuticas Marisa, Cristina e Camila, e as Médicas Veterinárias Isabel e Elisa, pelas trocas de experiências e auxílio mútuo em nossas respectivas pesquisas.

À Médica Veterinária Amanda de Souza da Motta, pelo armazenamento dos isolados do PDBL, e cessão dos mesmos para esta pesquisa.

Aos colegas de mestrado, em especial aos amigos do setor de equinos, que fizeram as disciplinas junto comigo, e foram parceiros de trabalhos e seminários.

À equipe do Centro Agropecuário da Palma, Engº Agrônomo Roger, e Médico Veterinário Cleyber, que prontamente permitiram os treinamentos da equipe.

Aos amigos do IFSUL-CAVG, educandário pelo qual guardo especial carinho, que abriram as portas e permitiram que usássemos as estruturas do campus para atividades acadêmicas com os estudantes da Faculdade de Veterinária

E por fim, agradeço a todos os produtores que nos abriram as portas, receberam-nos e permitiram que desenvolvêssemos nosso trabalho. Espero sinceramente que a modesta contrapartida que pudemos dar, frente à grande contribuição de vocês, através das atividades de extensão, possam lhes ter auxiliado a melhorar sua produção e ganhos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Oração do Mestre

*“Senhor, ajuda-me a ser Mestre!
Dá-me a ciência e a consciência,
alegria e espírito de ajuda,
bondade e generosidade,
justiça e imparcialidade...
Tu que puseste Senhor, diante de mim tantas almas mármore-írgens,
dá-me aulas de escultura!
Ensina-me
a manejar,
a melhorar,
a construir,
a auxiliar,
a elevar,
a formar,
a dignificar,
a compreender a imensa responsabilidade do meu trabalho!
Continua olhando para mim, para que eu alcance o ápice de minha missão:
devolver-te modeladas e voltadas para Ti, as almas todas que me confiaste!
Senhor, ajuda-me a ser Mestre”!*

Resumo

BATISTA, Lucas Schaefer. ***Staphylococcus* Coagulase Positiva Multirresistentes e suas Associações com a Saúde Animal e Humana**. 2026. 141f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2026.

A mastite é a doença de maior importância na pecuária leiteira mundial. Seu principal agente etiológico é *Staphylococcus aureus*, que pertence ao grupo dos *Staphylococcus* coagulase positiva. Ao mesmo tempo, *S. aureus* resistente à Meticilina (MRSA) são bactérias de preocupação da Organização Mundial da Saúde (OMS) para multirresistência. Estudos anteriores apontaram que a prevalência de *S. aureus* na região sul do Rio Grande do Sul envolvidos em mastites bovinas era de 17,6%, mas o grupo de *Staphylococcus* coagulase negativa seriam os mais prevalentes em rebanhos leiteiros. Enquanto isso, pesquisadores apontaram a existência de MRSA em hospitais humanos de Pelotas, que é a maior cidade da região. A partir do conceito de Saúde Única, onde admite-se a indissociabilidade da saúde animal, humana e ambiental, surge a preocupação com a associação entre bactérias de origem humana e animal da mesma espécie, uma vez que os hospedeiros coabitam a mesma região geográfica. O objetivo principal foi verificar a similaridade fenotípica entre isolados humanos e animais de *Staphylococcus* coagulase positiva, bem como observar se houve aumento da resistência aos antimicrobianos com o decorrer do tempo. Secundariamente, buscou-se estabelecer a prevalência de *Staphylococcus* coagulase positiva associado em mastites e a prevalência de mastites em rebanhos leiteiros, além de avaliar alguns fatores de risco. Para isso foram inicialmente recuperados 30 isolados bacterianos de mastites do banco de isolados da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, coletados entre 2010 e 2013, e submetidos à antibiograma frente a 37 antimicrobianos. Na sequência, foram visitadas 20 propriedades leiteiras, realizado diagnóstico clínico e microbiológico de mastite através de teste da caneca de fundo escuro, *Californian Mastitis Test* (CMT) e lactocultura. Também foi avaliado a presença dos seguintes possíveis fatores de risco: tamanho do rebanho, uso, ou não, do pré-dipping como desinfecção de tetos anterior a ordenha, e sistema de ordenha, a fim de comparar sua interferência na prevalência de mastites. Por fim, foram recuperados do banco de isolados exemplares multirresistentes de *Staphylococcus* coagulase positiva de seres humanos. Verificou-se que houve aumento da resistência em isolados de mastite quando comparados os períodos 2010-2013 e 2024-2025, com aumento na resistência, de 6,3% para 9,1%, e redução da sensibilidade de 91,4%, para 89,1%, ambos estatisticamente significativos. Entretanto, para nenhum dos princípios ativos houve diferença estatística na susceptibilidade dos isolados quando comparados os resultados 2010-2013 e 2024-2025. A prevalência de mastites clínicas foi de 6,85% dos animais e 3,01% dos quartos mamários. Já a prevalência de mastites subclínicas foi de 41,93% dos animais avaliados, correspondendo a 24,76% dos

quartos mamários. Atualmente, com base nos resultados obtidos no presente estudo, *Staphylococcus* coagulase positiva é o agente mais prevalente em casos de mastite nos rebanhos leiteiros da região sul do Rio Grande do Sul, presente em 20,65% das 678 amostras submetidas à lactocultura. Ao todo foram examinados 614 animais. Os sistemas de ordenha, e o uso, ou não de pré-dipping não interferiram na prevalência de mastites, já o tamanho do rebanho interferiu, sendo considerado um fator de risco, de forma inversamente proporcional, com Correlação de Spearman de -0,71, ou seja, rebanhos maiores, apresentaram as menores prevalências. Nenhum dos 37 antimicrobianos mostrou atividade absoluta de inibição. Foi estabelecida similaridade fenotípica entre isolados multirresistentes humanos e animais, com um Coeficiente de Similaridade de Jaccard de 0,675676, sendo que, em média, os isolados de humanos multirresistentes de *Staphylococcus* coagulase positiva são resistentes a um número maior de antimicrobianos que os isolados multirresistentes de bovinos. Foi estabelecida correlação estatística entre a resistência ao princípio ativo antimicrobianos com o fato do isolado ser proveniente de seres humanos em 12 dos 37 antimicrobianos testados. Foram encontrados em amostras oriundas de animais isolados com resistência a princípios ativos usados apenas em seres humanos, permitindo concluir que há uma via de transmissão direta e/ou indireta de genes de resistência de humanos para animais.

Palavras-chave: Mastite bovina; Saúde Única; Bovinos Leiteiros; Zooantroponose; Epidemiologia;

Abstract

BATISTA, Lucas Schaefer. **Positive-coagulase *Staphylococcus*, and its Associations with Human's and Animal's Health**. 2026. 141p. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2026.

Mastitis is the most important disease in the global dairy industry. The main etiological agent is *Staphylococcus aureus*, that own's coagulase-positive *Staphylococcus* group. At the same time, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is a bacterium of concern to multidrug resistance to World Health Organization (WHO). Previous studies indicated that the prevalence of *S. aureus* in the southern region of Rio Grande do Sul involved in bovine mastitis was 17.6%, but coagulase-negative *Staphylococcus* species was the most prevalent in dairy herds. Meanwhile, researchers have pointed to the existence of MRSA in human hospitals in Pelotas, the largest city in the region. Based on the One-Health concept, which acknowledges the inseparability of animal, human, and environmental health, concern arises regarding the association between bacteria of human and animal origin of the same species, since both cohabit the same geographic region. The main objective was to verify the phenotypic similarity between human and animal isolates of coagulase-positive *Staphylococcus*. Also was aimed to observe if there was an increase in antimicrobial resistance over time. Secondly, the study sought to establish the prevalence of coagulase-positive *Staphylococcus* associated with mastitis and the prevalence of mastitis in dairy herds, in addition to evaluating some risk factors. First of all 30 bacterial isolates of mastitis were recovered from the bacteria bank of the Veterinary Faculty of the Federal University of Pelotas, collected between 2010 and 2013. An antibiogram testing against 37 antimicrobials was performed for all those isolates. Subsequently, 20 dairy farms were visited, where clinical and microbiological diagnosis of mastitis was made using the dark-bottomed cup test, Californian Mastitis Test (CMT), and milk culture. The presence of the following possible risk factors was also evaluated: herd size, use, or not, of pre-dipping as a teat disinfection before milking, and milking system, in order to compare their interference in the prevalence of mastitis. Finally, multidrug-resistant of coagulase-positive *Staphylococcus* collected from humans were recovered from the bacteria bank. This study found that there was an increase in resistance in mastitis isolates when comparing the periods 2010-2013 and 2024-2025, with an increase in resistance from 6.3% to 9.1%, and a reduction in sensitivity from 91.4% to 89.1%, both statistically significant. However, for none of the active ingredient there were a statistically significant difference in the susceptibility of the isolates when comparing the results from 2010-2013 and 2024-2025. A total of 614 animals were examined. The

prevalence of clinical mastitis was 6.85% of the animals and 3.01% of the mammary quarters. The prevalence of subclinical mastitis was 41.93% of the animals evaluated, corresponding to 24.76% of the mammary quarters. Currently, based on the results obtained in this study, coagulase-positive *Staphylococcus* is the most prevalent agent in cases of mastitis in dairy herds in the southern region of Rio Grande do Sul, present in 20.65% of the 678 samples submitted to milk culture. Milking systems and the use, or not of pre-dipping did not interfere with the prevalence of mastitis, while herd size did interfere, being considered a risk factor, in an inversely proportional way, with a Spearman Correlation of -0.71, it means that larger herds presented the lowest prevalences. None of the 37 antimicrobials showed absolute inhibitory activity. Phenotypic similarity was established between multidrug-resistant human and animal isolates, with a Jaccard Similarity Coefficient of 0.675676. On average, multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from humans are resistant to a greater number of antimicrobials than multidrug-resistant isolates from cattle. A statistical correlation was established between resistance to the active ingredient of antimicrobials and the fact that the isolate originated from humans in 12 of the 37 antimicrobials tested. Isolates from animals were found to be resistant to active ingredients used only in humans, allowing us to conclude that there is a direct and/or indirect transmission pathway of resistance genes from humans to animals.

Keywords: Bovine mastitis; One-health; Dairy Cattle; Zoonoses; Epidemiology;

Lista de Figuras

Artigo 2

Figura 1	Frequency (in percentage) of results for susceptibility of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates from the southern region of Rio Grande do Sul state between the periods 2010-2013 and 2024-2025.....	79
----------	---	----

Artigo 3

Figura 1	Number of resistant and susceptible antimicrobials to isolates from animals and humans.....	95
----------	---	----

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Total number of animals, mammary quarters evaluated per farm in the southern region of Rio Grande do Sul State – Brazil.....	64
Tabela 2	Clinical mastitis results in dairy herds from the southern region of Rio Grande do Sul State – Brazil.....	65
Tabela 3	Results for subclinical mastitis in dairy farms in the southern region of Rio Grande do Sul State – Brazil.....	66
Tabela 4	Milking characteristics evaluated in dairy farms from the southern region of Rio Grande do Sul State – Brazil.....	67
Tabela 5	Bacteria isolated from mastitis milk samples of animals in dairy herds in the southern region of Rio Grande do Sul State – Brazil.....	68

Artigo 2

Tabela 1	Size range (in millimeters) of inhibition halos for classification of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates for each antimicrobial active ingredient.....	74
Tabela 2	Susceptibility to antimicrobials of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates from 2010 to 2013.....	75
Tabela 3	Resistance to antimicrobials of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates in mastitis in the southern region of Rio Grande do Sul between 2010 and 2013.....	76

Tabela 4	Susceptibility to antimicrobials of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates in 2024-2025.....	77
Tabela 5	Antimicrobial resistance of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates in the southern region of Rio Grande do Sul between 2024 and 2025.....	78
Tabela 6	Comparison of antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant isolates of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> from the southern region of Rio Grande do Sul between 2010-2013 and 2024-2025.....	80
Tabela 7	Discrimination of susceptibility and resistance of multidrug-resistant coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates from the southern region of Rio Grande do Sul in the period 2010-2013.....	81
Tabela 8	Discrimination of susceptibility of multidrug-resistant coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates from the southern region of Rio Grande do Sul in the period 2024-2025.....	82

Artigo 3

Tabela 1	Discrimination of the results of the antibiograms of coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolates from humans.....	89
Tabela 2	Susceptibility of multidrug-resistant isolates of positive coagulase <i>Staphylococcus</i> from humans.....	91
Tabela 3	Discrimination of antibiograms results in cow's positive coagulase <i>Staphylococcus</i> multidrug-resistant isolates.....	92
Tabela 4	Susceptibility of multidrug-resistant isolates of positive coagulase <i>Staphylococcus</i> from animals.....	94
Tabela 5	Comparison of the origin of the coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> isolate from the southern region of Rio Grande do Sul – Brazil with the antimicrobial susceptibility profile.....	96

Tabela 6 Metric criterion for the size of the inhibition halo read in
antibiograms (in millimeters) used to classify coagulase-positive
Staphylococcus isolates of human and animal origin as susceptible,
intermediate, or resistant to each
antimicrobial..... 102

Lista de Abreviaturas e Siglas

AINES	Antinflamatórios Não Esteroidais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	Coleção de Culturas de Tipo Americana
BHI	Caldo Infusão Cérebro-Coração
BrCAST	Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CCS	Contagem de Células Somáticas
CEUA/UFPEL	Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CMT	Californian Mastitis Test
CS	Células Somáticas
CS/ml	Células Somáticas por mililitro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTHA	Doença de Transmissão Hídrica e Alimentar
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Rio Grande do Sul
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ESBL	Betalactamases de Espectro Ampliado <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> meticilina-resistente,
ESKAPE	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Enterobacter</i> .
Et al	Et Alis, na língua Latim, cujo significado é “e outros”
INs	Instruções Normativas
IRAS	Infecções Relacionadas com a Assistência a Saúde
ISSO	International Standards Organization
IUC	Unidade de Terapia Intensiva (sigla em língua inglesa)

Km	Quilômetro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Mcl	Microlitros
MIC	Concentração Inibitória Mínima (sigla em língua inglesa)
MI	Mililitro
MLS	Macrolídeos, Lincosamidas e Estreptogaminas
Mm	Milímetros
mmHg	Milímetros de Mercúrio
m-RNA	Ácido Ribonucleico mensageiro
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à Meticilina
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensíveis à Meticilina
N	Número de isolados, amostras ou cidades.
NaCl	Cloreto de Sódio
OIE	Organização Mundial para Saúde Animal
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Probabilidade de ocorrência do evento aleatório
PCA	Ágar Padrão de Contagem
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
r_{xy}	Coeficiente de Correlação Bidimensional
sp.	Espécie indefinida do gênero conhecido
spp.	Todas as espécies do gênero
t-RNA	Ácido Ribonucleico transportador de aminoácidos
UFC/g	Unidades Formadoras de Colônia por grama
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> com sensibilidade intermediária à Vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à Vancomicina
WHO	Organização Mundial da Saúde (sigla em língua inglesa)

Lista de Símbolos

%	Porcentagem
°C	Graus Célsius
<	Menor que
>	Maior que
$\leq$	Menor ou igual a
$\geq$	Maior ou igual a
U	União de Conjuntos
$\cap$	Intersecção de Conjuntos
J	Coeficiente de Similaridade de Jaccard
h	Horas
S	Unidade de medida Svedberg
XX	20
+	Mais
*	Sinal de multiplicação

Sumário

1 Introdução.....	19
2 Revisão da Literatura	21
2.1 Evolução e Contexto Socioeconômico da Pecuária Leiteira.....	21
2.2 Mastite Bovina	24
2.3 Bactérias Multirresistentes.....	30
2.4 Antimicrobianos	32
2.5 <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>.....	39
3 Artigos.....	44
3.1 Artigo 1.....	44
3.2 Artigo 2.....	68
3.3 Artigo 3.....	85
4 Considerações Finais	106
Referências	109
Anexos	129

1 Introdução

O leite é um produto naturalmente rico e equilibrado (UNGER et al, 2025), sendo seu consumo, e/ou de seus derivados extremamente benéfico para a saúde (ALAGHEHBAND et al., 2025). Ao mesmo tempo, é importante que a matéria prima seja de procedência idônea, uma vez que do contrário pode carregar patógenos zoonóticos (WELDEGEBRIEL et al., 2025).

Nessa mesma esteira de inquietações atuais, podemos citar os impactos ambientais, cujos efeitos têm sido importantes tanto para os produtores, quanto para as populações urbanas. Reflexo disso são a sucessão de anos de estiagem, seguidos pela maior catástrofe climática da história, ocorrida com as enchentes no Rio Grande do Sul, em 2024.

A partir do conceito de saúde única, onde assume-se como indissociável a saúde humana, animal e ambiental, a produção pecuária por sua vez, passa a ser um elo central de ligação e o equilíbrio entre os três pilares, não só pelo impacto no ambiente onde é desenvolvida, mas também pelas enfermidades zoonóticas, devido ao contato com animais e/ou seus tecidos, secreções, fluídos e excretas, mas também pelas doenças transmitidas por alimentos e água (DTHAs) como o leite e seus derivados. Para além dos agentes etiológicos veiculados direta, ou indiretamente, organizações internacionais como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e Organização Mundial para Saúde Animal (OIE) vêm apontando uma outra preocupação, que é a seleção de bactérias multirresistentes (McEWEN & COLLIGNON, 2017).

Bactérias multirresistentes são microrganismos que possuem resistência a pelo menos três classes de antimicrobianos (ANVISA, 2020). A resistência bacteriana ocorre em função de mutações genéticas, que acabam conferindo características que tornam os fármacos antimicrobianos ineficientes. O uso inadequado dos antimicrobianos gera uma pressão de seleção artificial, onde acaba-se eliminando indivíduos sensíveis, e selecionando-se os resistentes (VIRTO et al, 2022).

Uma vez que animais também são susceptíveis a infecções, para assegurar-lhes o reestabelecimento da saúde, muitas vezes é necessário o emprego de antimicrobianos. Para além disso, outrora esses mesmos princípios ativos já foram utilizados como promotores de crescimento, buscando modular a microbiota, a fim de obter ganhos produtivos. No Brasil essa prática é proibida, e o uso de antimicrobianos é regulamentado na Medicina Veterinária, especialmente no tocante a animais produtores de alimentos (IN9/2003; IN26/2009; IN14/2012; IN45/2016; IN1/2020). Na cadeia leiteira há um rígido controle acerca dos resíduos de produtos de uso veterinário, em especial dos antimicrobianos, de forma que, caso seja detectada a presença de antimicrobiano, o leite não pode ser destinado ao consumo humano (IN77/2018). Ele acaba sendo descartado pela unidade de beneficiamento, que por sua vez acaba por punir financeiramente o produtor responsável pelo envio de leite com resíduo.

A doença de maior importância na pecuária leiteira atual é a mastite (MOREIRA et al, 2024). A mastite leva a diversos impactos econômicos (BENÍTEZ et al., 2025), sendo justamente o aspecto financeiro, um dos maiores gargalos da atividade. Ao mesmo tempo que prejudica financeiramente a produção de leite, gera um importante e negativo impacto sobre a saúde única: acarreta com um alto consumo de antimicrobianos, pois os principais agentes etiológicos são bactérias (SANTOS & FONSECA, 2019), sendo a mais frequentemente relatada, *Staphylococcus aureus*.

Há luz de todo esse contexto, o presente trabalho elegeu a região geográfica do sul do Rio Grande do Sul, que já possui dados prévios publicados (BANDEIRA et al., 2013; DAL VESCO et al., 2017) com o objetivo de estabelecer a prevalência atual de mastites nos rebanhos leiteiros e verificar de forma mais aprofundada a prevalência de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, cujo principal representante é a espécie *Staphylococcus aureus*, que figura na lista de preocupações da OMS para multirresistência e é apontada mundialmente como grande causadora de mastites em rebanhos leiteiros. Além disso, o objetivo principal deste estudo é observar aspectos relacionados à resistência bacteriana em isolados de mastite, comparando a similaridade fenotípica com isolados de seres humanos da mesma região, traçando a susceptibilidade aos diferentes antimicrobianos. Em posse desses resultados, comparar os achados atuais com os de outrora, verificando como tem ocorrido a evolução da multirresistência na região.

2 Revisão da Literatura

2.1 Evolução e Contexto Socioeconômico da Pecuária Leiteira

A pecuária leiteira é uma atividade de grande relevância, que atravessou profundas mudanças ao longo da história. Acredita-se que a origem da produção leiteira no mundo ocorreu durante o período neolítico, no Oriente Médio, onde primariamente o consumo teria sido de derivados fermentados, uma vez que um adulto não teria a capacidade de digerir a lactose (CURRY, 2013).

Posteriormente no que hoje se conhece como continente europeu, teria surgido uma mutação no gene responsável pela produção da lactase, fazendo-a persistir até a idade adulta, o que permitiu o consumo do leite *in natura*, também por adultos. Segundo Curry (2013) isso conferiu àquela comunidade uma vantagem seletiva, que culminou com o aumento da fertilidade da população, persistindo a capacidade de consumo do leite por adultos através dos séculos.

No Brasil os primórdios da produção leiteira ocorreram a partir de 1532, com a chegada de Martim Afonso de Souza, que trouxe as primeiras 32 vacas leiteiras (VILELA et al, 2017). Durante o período de busca pelo ouro na região que hoje corresponde ao estado de Minas Gerais, a produção de alimentos instalou-se nas regiões mais planas, que se antecipavam na rota dos mineradores, com o objetivo de abastecê-los. No geral, por muito tempo a atividade leiteira foi insignificante no contexto brasileiro (VILELA et al, 2017).

A pasteurização surge em 1863, na França, através da teoria da biogênese de Louis Pasteur, inicialmente para evitar que bebidas como vinho fermentassem e virassem vinagre (LEITE et al., 2006). Posteriormente foi implementada na cadeia láctea, a fim de controlar microbiologicamente a qualidade do produto, entre eles agentes da tuberculose. Foi no ano de 1952, no governo de Getúlio Vargas, com a publicação do decreto que instituiu o primeiro Regulamento Técnico de Inspeção Industrial de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), hoje vigente na forma atualizada

pelo decreto 10.468/2020, que o controle de qualidade dos produtos lácteos começa a ganhar importância no Brasil (VILELA et al, 2017).

Na década de 1960 ocorreu a chamada “Revolução Verde” no Brasil, com a intensificação dos processos de produção agrícola, através da adoção de pacotes tecnológicos, que na pecuária envolviam seleção de reprodutores, melhoramento genético e utilização de tecnologias que proporcionassem um ambiente favorável a manifestação do potencial genético dos animais. Isso culminou com importante aumento da produção, tornando o país uma grande potência agropecuária (VILELA et al., 2017).

Na década de 2010, com o avanço das pesquisas e processos digitais começou a ser implementado o conceito da chamada “Agricultura de Precisão”. Posteriormente, a mesma foi extrapolada para “Pecuária de Precisão”, no tocante a cadeia leiteira, consiste no monitoramento da produção através de dados e indicadores, para otimização do uso de insumos e recursos (CADERNO TÉCNICO DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, 2015). Ao mesmo tempo, houve uma crescente exigência por qualidade do leite, que passou a ser visto como matéria prima para industrialização, refletidas pelas sucessivas instruções normativas (INs) publicadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que regem e balizam a produção leiteira, iniciando pela IN51/2002, passando pela IN62/2011, chegando a atual IN77/2018.

Sob o ponto de vista mercadológico, o Brasil é tradicionalmente importador de leite e seus derivados. Os primeiros dados começaram a ser levantados no ano de 1961, de lá para cá em poucos momentos históricos a balança comercial foi superavitária (VILELA et al, 2017). Apesar disso, o país está entre os quatro maiores produtores do mundo (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2025).

Os recentes anuários da cadeia leiteiras publicados pela Embrapa Gado de Leite, em 2024 e 2025, mostram que a região sul é a maior produtora do Brasil, sendo que a maior bacia leiteira do país se encontra situada na região noroeste do Rio Grande do Sul, ainda que o estado de Minas Gerais individualmente seja o maior produtor. Ao mesmo tempo, o anuário de 2025 mostra que a maior parte da produção leiteira do país concentra-se em grandes propriedades leiteiras, que proporcionalmente são poucas, cerca de 3,3% dos produtores respondem por 42,5%

da produção nacional, enquanto 60,7% dos produtores, somados, respondem por apenas 12,3% do total produzido no país.

Atualmente a cadeia leiteira no Rio Grande do Sul vem sofrendo uma drástica redução no número de produtores, que hoje acumula menos da metade do que possuía na década passada. Aspectos como baixa remuneração pelo leite, falta de mão-de-obra e elevado custo de produção são apontados como os principais problemas por 49,89%, 45,96% e 42,11% dos produtores, respectivamente. (EMATER, 2025). Por outro lado, problemas com a qualidade do leite vem sofrendo uma redução do apontamento como principal problema, caindo de 31,7% para 15,52% (EMATER, 2025).

O Relatório Socioeconômico da Cadeia Produtiva do Leite 2023 apontou que atualmente existem 122.079 estabelecimentos produtores de leite no Rio Grande do Sul, dentre os quais a maioria (64,8%) produzem para consumo próprio. Existem cerca de 26,9% de estabelecimentos que revendem o leite cru para processamento industrial, tendo-se 185 estabelecimentos que processam o leite de forma legalizada e cerca de 7,9% comercializam leite e/ou seus derivados diretamente para o consumidor, de forma informal. Os rebanhos leiteiros possuem variações quanto ao número de animais, sendo que os maiores possuem, em média, cerca de 23,26 animais por estabelecimento, e correspondem às propriedades que comercializam o leite *in natura* para processamento industrial, e com média de 32,81 animais no rebanho, em estabelecimentos que processam o leite de forma legalizada (EMATER, 2025).

Inúmeras características são mensuradas pelo relatório da Emater/RS (2025), que em suma, apontam que a produção comercial de leite no Rio Grande do Sul é eminentemente oriunda de vacas das raças Holandesa e Jersey, em sistemas de pastejo com suplementação. Já nos sistemas de ordenha há uma divisão, onde cerca de um terço dos produtores utilizam sistema canalizado, um terço utilizam transferidores de leite e um terço utilizam sistema de tarros, também chamados “balde ao pé”. Os sistemas de robôs e carroceis somam 0,4% do total (EMATER, 2025).

No contexto da década de 2020, onde observa-se a digitalização dos processos, inúmeras mudanças nos hábitos de consumo, emergem novas demandas no mercado, que também podem ser consideradas “valor agregado” e surgem novas

preocupações com aspectos ambientais e de saúde. Isso permeia a cadeia leiteira, e afeta de forma direta e indireta os produtores e profissionais que atuam nela.

Atualmente há uma grande preocupação e demanda mercadológica para com a cadeia produtiva sobre aspectos de bem-estar animal (ALONSO, et al., 2020). Isso tem levado muitos consumidores a mudanças nos hábitos alimentares, entre eles o leite e seus derivados (AMMANN et al., 2024). Por outro lado, há uma crescente preocupação individual das pessoas com a própria saúde (LI et al., 2020), que podem acabar, por crenças pessoais e/ou informações equivocadas que muitas vezes são veiculadas deixando de consumir produtos que, paradoxalmente, são benéficos à saúde.

2.2 Mastite Bovina

Genericamente, mastite é a inflamação da glândula mamária (COBIRKA et al., 2020). O processo inflamatório pode decorrer de diferentes etiologias, como traumas mecânicos, lesões químicas, ou processos infecciosos. Os processos infecciosos são a principal causa de mastites, já tendo sido identificados mais de 140 agentes.

A depender do agente infeccioso, mais especificamente da fonte de infecção, as mastites podem ser classificadas como ambientais, quando o agente é contraído do ambiente, ou contagiosas, quando a fonte de infecção é outro animal doente. (RIBEIRO et al., 2020) As bactérias mais envolvidas em mastites ambientais são o *Streptococcus dysgalactea*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* e outras enterobactérias. Já os agentes mais comuns de mastites contagiosas são o *Staphylococcus aureus*, os *Staphylococcus* coagulase negativa, *Streptococcus agalactiae*, *Micoplasmas* spp., e *Corynebacterium bovis* (MORALES-UBALDO et al., 2023).

Quanto a manifestação clínica, as mastites são classificadas em clínicas, quando há a presença de sinais clínicos evidentes, ou subclínica, que ocorre quando a etiologia não é clinicamente evidente. Os casos de mastite clínica são mais facilmente detectados, e a patologia pode ser classificada em três graus, conforme a gravidade (NARVÁEZ-SEMANATE et al., 2022).

As mastites de grau leve, também chamadas “Grau I”, são aquelas que se restringem ao quarto mamário, e cursam com a expulsão de conteúdo purulento, secreção anômala do leite, popularmente conhecida como “grumos no leite”. Esses quadros normalmente detectados com certa facilidade e tratados de forma local, mas não significam que não representem perigo de evolução para quadros clínicos severos (RIBEIRO et al., 2020).

As mastites de grau moderado, ou de “Grau II”, são aquelas que há um processo inflamatório instalado em toda glândula mamária. Semiologicamente são passíveis de detecção os sinais cardiais inflamatórios, localmente, devido a diapedese em resposta imunológica inata ao agente etiológico (SANTOS & FONSECA, 2019).

Quando se tem o acometimento sistêmico do animal, se diz ter uma mastite “Grau III”. São processos infecciosos e inflamatórios graves, que podem inclusive evoluir com o óbito do animal. Clinicamente verifica-se pirexia, alterações hemodinâmicas e cardiorrespiratórias. Nesses casos a liberação de prostaglandinas e interleucinas pró-inflamatórias podem provocar uma cascata autossustentada, que leve ao colapso vascular periférico e compartimentalização de fluidos plasmáticos, culminando com a redução da perfusão periférica e a hipóxia dos tecidos, caracterizando o choque séptico. A depender do momento de constatação do choque distributivo por causa séptica, os sinais clínicos podem variar. Na fase hiperdinâmica o tempo de preenchimento capilar poderá estar aumentado, haverá taquicardia, taquipneia e a pressão arterial estará dentro dos valores de referência, no caso de bovinos, a Pressão Arterial Sistólica acima de 100mmHg. Já na fase hipodinâmica há uma perda progressiva dos sinais vitais, em quadros de prognósticos reservados a desfavoráveis (CONSTABLE et al., 2021).

Hematologicamente mastites bacterianas tendem a manifestar leucocitose neutrofílica, podendo apresentar desvio a esquerda, como classicamente os quadros infecciosos se manifestam. Entretanto, quando há um processo de sepse instalado, é possível verificar uma leucopenia (STOCKHAM & SCOTT, 2020).

Invariavelmente, a mastite cursa com o aumento na contagem de células somáticas no leite (CCS). As células somáticas se originam dos infiltrados de neutrófilos em processos agudos, ou de macrófagos em processos crônicos, além de células de descamação. A CCS acima de 200×10^3 CS/ml em amostras individuais já indica a presença de processo inflamatório, entretanto a legislação atual prevê apenas

a análise periódica da CCS do tanque de resfriamento de leite, cujo limite é $500 \times 10^3 \text{CS/ml}$ (COBIRKA et al., 2020; IN77/2018).

A amostra para CCS coletada do tanque de armazenamento permite uma avaliação como indicador geral de saúde mamária do rebanho. Entretanto, provas zootécnicas de produção e qualidade do leite exigem amostragem individual mensal, ou bimestral (IN78/2018). Usualmente a metodologia de análise para CCS se dá de forma automatizada, por citometria de fluxo, seja de amostras provenientes diretamente dos animais, seja de amostras coletadas do tanque de expansão (ISO 13366-2:2014). Ambos os casos as amostras usuais são de 50ml, no caso dos animais, coletada de forma representativa, havendo leite de todas as ordenhas diárias, e com acréscimo do conservante bactericida Bronopol (CASSOLI et al., 2010).

Uma forma indireta de avaliar a CCS, é através do *Californian Mastitis Test* (CMT). O processo consiste na mistura de uma amostra de 2ml de leite, proveniente de cada quarto mamário funcional, que não apresente diagnóstico de mastite clínica prévio, com igual volume de um reagente específico para essa finalidade. O reagente do CMT é um detergente de tonalidade roxo-avermelhada, que rompe a membrana plasmática das células eucarióticas e liberando o citosol no leite. Devido a riqueza proteica do citoplasma celular, por conta de suas organelas e metabólitos, há um consequente aumento da viscosidade da mistura, proporcional a quantidade de células presentes na amostra, formando um processo de gelificação visível a olho nu. O resultado da viscosidade e gelificação deve ser classificado de forma crescente, em cruzes, onde zero indica ausência e três indica alta CCS (RIBEIRO et al., 2020).

Apesar das conhecidas limitações do CMT, tanto pela subjetividade do avaliador, quanto pela potencial baixa acurácia, que pode culminar em falsos positivos, ou falsos negativos, é um teste amplamente utilizado para detectar mastites subclínicas. A possibilidade de utilizar e ter o resultado imediato ao pé do animal, permite a tomada de condutas mitigatórias de disseminação de mastites contagiosas. Entretanto, o tratamento do animal não deve ser feito a partir do resultado do CMT (KANDEEL et al., 2018; HUANG & KUSABA, 2022).

A CCS elevada não apenas aponta a existência de mastites, mas é um critério de qualidade do leite, previsto em legislação, que deve ser utilizado pela indústria láctea. Muitos laticínios utilizam esse critério para bonificar e/ou até mesmo penalizar financeiramente os produtores, conforme a CCS de seu tanque. Já a mastite por si só

causa importante impacto econômico nas propriedades, pois gera perdas produtivas, custos com tratamentos, não só de medicações, como também do descarte de leite no período de carência dos fármacos, e muitas vezes leva ao descarte prematuro de animais (ABERA, 2020).

O diagnóstico da mastite clínica pode ser feito através do teste da caneca de fundo escuro, e seu estadiamento quanto ao grau de severidade através de avaliação clínica. Já o diagnóstico da mastite subclínica pode se dar pela avaliação da CCS, seja por citometria de fluxo, seja pelo CMT. Entretanto o diagnóstico etiológico de ambas requer lactocultura (HUANG, 2022).

Atualmente a lactocultura é algo bastante acessível, havendo no mercado kits comerciais que permitem que a mesma seja realizada dentro das propriedades. Ainda assim, existe a metodologia de lactocultura tradicional (SANTOS & FONSECA, 2019), que se dá através da semeadura de alíquotas de leite mastítico em ágar sangue, seguida da identificação bioquímica e/ou molecular do patógeno.

Dentre os muitos possíveis agentes etiológicos, o mais relatado ao redor do mundo é o *S. aureus*. O trabalho de Dal Vesco et al. (2017) apontou que na região sul do Rio Grande do Sul o mais prevalente seriam os *Staphylococcus* coagulase negativa. Já Bandeira et al. (2013) havia apontado *S. aureus* na mesma região com 17,6% dos casos de mastite subclínica.

Epidemiologicamente a transmissão de *S. aureus* se dá de forma contagiosa. Os equipamentos de ordenha e as mãos dos ordenhadores desempenham papel de veiculadores desses microrganismos (COBIRKA et al., 2020). Dessa forma as estratégias de manejo de ordenha precisam observar esses meios de disseminação a fim de mitigá-los. Normalmente é um agente de difícil controle, não só pela resistência aos antimicrobianos, como também pelos seus fatores de virulência. Essa bactéria forma microabscessos no parênquima alveolar, que a depender do caso podem evoluir para fístulas mamárias, e permanece latente para momentos de debilidade imunológica. Ademais, *S. aureus* também possui a capacidade de multiplicação dentro das células fagocíticas (RIBEIRO et al., 2020).

Somado à preocupação para com a qualidade microbiológica do leite, o manejo de ordenha está diretamente associado com as estratégias de prevenção de mastite em suas duas formas: contagiosa e ambiental. Medidas como o agrupamento em lotes

visam que animais portadores de bactérias contagiosas não disseminem através do equipamento de ordenha para animais saudáveis (ABEBE et al., 2023). Ao mesmo tempo, diferentes estratégias de limpeza dos próprios equipamentos devem ser empregadas, pois nesses pode haver acúmulo de patógenos e formação de biofilmes (MEDINA et al, 2024).

A prevenção de mastites ambientais no período de lactação passa pela permanência dos animais em pé após a ordenha, e pelo uso do *pós-dipping*, a fim de evitar que não sejam assimilados patógenos enquanto o tônus do esfíncter ainda não é suficiente para promover o fechamento do ducto galactóforo. Para além disso, o manejo sanitário do ambiente é fundamental para reduzir a pressão infectiva (ABEBE et al., 2023).

A decisão pelo tratamento das mastites no rebanho varia conforme a apresentação clínica do caso, bem como da etiologia. Casos subclínicos devem ser tratados no período seco, com antibioticoterapia, através de produtos de liberação prolongada. Já os casos clínicos devem ser tratados imediatamente após a detecção (SANTOS & FONSECA, 2019).

O tratamento de mastites clínicas depende do grau da mesma. Casos leves, de Grau I devem ser tratados com antibioticoterapia intra-mamário. Preferencialmente a escolha do princípio ativo deve ser guiada pela lactocultura e antibiograma. Já nos casos de mastite Grau II o mais indicado é além da antibioticoterapia local, o emprego de antiinflamatórios não esteroidais (AINES). A partir da lactocultura e definição pela microscopia óptica do perfil de agentes, é importante destacar que cocos Gram-positivos como *S. aureus* sempre devem ser tratados. No caso de *S. aureus* há ainda a recomendação de antibioticoterapia prolongada, justamente pela característica de permanecer latente no parênquima mamário. Já em caso de Gram-negativos, atualmente se preconiza em casos leves o monitoramento por cerca de 36 horas, do início da sintomatologia para o início da antibioticoterapia (SANTOS & FONSECA, 2019).

Já nos casos de mastite Grau III a intervenção terapêutica deve ser imediata. Nesses casos, além da terapia antiinflamatória e antimicrobiana sistêmica, é necessário empregar terapia de suporte. A terapia de suporte deve visar restabelecer as funções orgânicas, e preservar a perfusão tecidual. Nesse sentido, é necessário suporte de fluidoterapia. Se tratando de fluidoterapia em casos graves, deve-se

observar que o metabolismo tecidual anaeróbico leva a uma acidificação plasmática pela liberação de ácido lácteo, sendo assim, deve-se dar preferência pelo Ringer Lactato, que não interfere no pH sanguíneo. Para optar pelo uso do bicarbonato, e recomposição do equilíbrio ácido-base, é necessário haver disponibilidade de hemogasometria (FILHO et al., 2024).

O uso da hemogasometria a campo pode ter importantes limitações. Apesar de ser um exame de grande valia em casos de infecções graves, há uma importante diferença de valores entre o sangue arterial e venoso. No caso do sangue venoso, ainda ocorrem variações conforme, o metabolismo de consumo de oxigênio de cada tecido. Além da potencial limitação para canulação de artérias a campo, o tempo transcorrido entre a coleta e o processamento da amostra, se prolongado, pode levar a alteração da amostra, uma vez que componentes voláteis são mensurados no exame. Apesar dessas limitações, o sangue venoso pode ser utilizado, coletado em seringa heparinizada, para mensuração do equilíbrio-ácido base, e eventual reposição de eletrólitos (FILHO et al., 2024).

A terapia antimicrobiana das mastites precisa considerar dois pontos para a escolha do fármaco: a susceptibilidade da bactéria ao fármaco, e a distribuição do fármaco na glândula mamária. A determinação da susceptibilidade é possível através de antibiograma. Já a farmacocinética depende da via de administração, sendo que pode haver diferenças no mesmo princípio ativo usados sistemicamente e pela via intramamária. Em geral as Quinolonas, a Licosamida, a Tilosina e o Trimetoprima apresentam boa distribuição a partir de ambas as vias. Já as Aminopenicilinas e a Cefalexina apresentam boa distribuição para uso intra-mamário, e limitado quando usado sistemicamente. A Penicilina G apresenta distribuição limitada, independentemente da via administração, e os aminoglicosídeos apresentam distribuição pobre, independentemente da via de administração (SANTOS & FONSECA, 2019).

Em casos graves, pode ser necessária a associação de administração local e sistêmica, mantendo os níveis séricos acima da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Nesse sentido, é importante conhecer tanto a farmacocinética, quanto a interação medicamentosa dos produtos, de forma a escolher associações sinérgicas. Na antibioticoterapia, o sinergismo muitas vezes está no uso de princípios ativos com

atuação em diferentes mecanismos, por exemplo, um com atuação sobre a parede bacteriana, e outro com ação sobre síntese proteica.

O sucesso terapêutico requer também um monitoramento constante da vaca enferma. O insucesso terapêutico pode estar associado com a má administração da terapia, da resistência antimicrobiana frente ao fármaco escolhido, ou ambos. Em se tratando de mastites, *S. aureus* é uma bactéria que preocupa muito pela resistência aos antimicrobianos, justamente a mais frequentemente apontada como etiologia de mastites contagiosas.

2.3 Bactérias Multirresistentes

Uma das maiores revoluções da medicina foi a descoberta da Penicilina, por Alexander Fleming em 1928. Inicialmente a descoberta da substância permitiu o tratamento de infecções, em especial por *S. aureus*, mas logo em seguida foi verificada a existência de cepas resistentes (LAKHUNDI & ZHANG, 2018).

A Penicilina é uma substância oriunda dos fungos do gênero *Penicillium* spp., que possui uma estrutura química chamada de anel betalactâmico, que atua impedindo a formação da parede celular de peptidoglicano das bactérias Gram-positivas. As primeiras cepas resistentes à penicilina se desenvolveram devido a um processo de seleção, ocorrido pela alta exposição das bactérias à penicilina. Essas cepas de *S. aureus* resistentes desenvolveram a capacidade de sintetizar uma enzima chamada de betalactamase, que por sua vez atua sobre o anel betalactâmico da Penicilina (BUSH & BRADFORD, 2016).

Frente à potencial ineficácia da Penicilina, foi desenvolvida de forma química uma molécula de penicilina resistente à ação das betalactamases, que foi denominada Meticilina. Após o desenvolvimento da Meticilina, verificou-se que surgiram cepas de *S. aureus* também resistentes à Meticilina, sendo essas denominadas *Staphylococcus aureus* metilina-resistentes (MRSA). A partir de então as cepas de *S. aureus* passaram a ser classificadas como sensíveis a Meticilina (MSSA), ou resistentes à ela.

Paralelamente, observou-se que a ação das Penicilinas não apresentava eficácia satisfatória para bactérias Gram-negativas. Para sanar essa lacuna foram desenvolvidas as penicilinas semissintéticas, que é o caso das aminopenicilinas. Entretanto, essas moléculas eram susceptíveis a ação das betalactamases, sendo posteriormente associadas nas especialidades farmacêuticas com inibidores de betalactamases, que é o caso do Clavulanato de Potássio, frequentemente associado com Amoxicilina e do Sulbactam, frequentemente associado com a Ampicilina (SPINOSA, 2019^a).

Ao decorrer das décadas do século XX inúmeras medicações antimicrobianas foram sendo desenvolvidas com vistas a aumentar o espectro de cobertura contra os diferentes microrganismos. Novas classes foram surgindo, com mecanismos de ação atuando em diferentes sítios de ligação da bactéria. Apesar desses esforços as bactérias foram desenvolvendo novos mecanismos de resistência, aos diferentes fármacos, tornando-se as chamadas “superbactérias” (OMS, 2024).

Atualmente a OMS considera as bactérias multirresistentes uma grande ameaça à saúde mundial. Ela estima que dez milhões pessoas, ou mais, irão morrer por conta de infecções causadas pelas superbactérias até metade do corrente século. Diante dessa realidade foi publicado em 2024 uma lista com as bactérias consideradas como preocupantes para multirresistência. Esse grupo, denomina-se ESKAPE, que é um acrônimo formado pelas iniciais de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* (OMS, 2024).

No Brasil, a partir da criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pela lei 9872/1999 passou-se a dar mais atenção as infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Através da portaria 2616/1998 do Ministério da Saúde passou a ser obrigatória a criação de Comissões de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) nos estabelecimentos prestadores de serviços. A partir da portaria da ANVISA 44/2010 a venda de produtos contendo 119 princípios ativos antimicrobianos passou a requerer retenção obrigatória de receita. Todas essas medidas buscaram reduzir o abuso no uso de antimicrobianos, e conseqüentemente frear o avanço da resistência bacteriana.

A resistência antimicrobiana frente aos fármacos se dá em função de genes assimilados horizontalmente pelos microrganismos, seja através de processos de

conjugação ou transposição, transferência por vetores virais, chamada transdução, assimilação do ambiente por transformação, ou mutados, frente a pressão seletiva imposta pelo uso dos antimicrobianos. A partir dessas bases genéticas, são sintetizadas enzimas inativadoras, como é o caso das betalactamases, bombas de efluxo, ou ainda são modificados os sítios de ligação dos produtos, ou a permeabilidade das membranas (SPINOSA & TÁRRAGA, 2019).

2.4 Antimicrobianos

Antimicrobianos são produtos desenvolvidos para matar bactérias. Eles são agrupados quanto a origem em “antibióticos”, quando descendem de uma molécula produzida por organismos vivos, ou “quimioterápicos”, quando são oriundos de síntese laboratorial (SPINOSA & TÁRRAGA, 2019).

Usualmente os antimicrobianos são utilizados na profilaxia e controle das infecções em animais e seres humanos. Guardadas as particularidades fisiológicas de cada espécie, a maioria das moléculas são comuns a todas as espécies, podendo diferir a farmacocinética e toxicidade entre as espécies. Já o mecanismo de ação, detêm-se nas principais estruturas bacterianas, havendo variações entre as classes de princípios ativos.

O primeiro quimioterápico antibacteriano desenvolvido foram as Sulfas. Essas medicações atuam sobre a síntese do ácido fólico, inibindo-o, de forma a impedir a multiplicação do DNA e tradução de proteínas, dessa forma as Sulfas atuam como “antimetabólicos bacterianos”. Durante o desenvolvimento, diferentes moléculas foram testadas, apresentando características farmacocinéticas distintas. A exceção são as Sulfonamidas, cuja função é a atuação no próprio tubo digestivo. Com o tempo, diversos usos foram feitos para essa classe de antimicrobianos, chegando até mesmo a ser incorporado na ração animal. Por outro lado, o uso clínico prolongado pode predispor à toxicidade crônica, como cristalúria e até mesmo anemia aplástica, sendo que tratamentos com mais de uma semana são contraindicados (GÓRNIÁK, 2019).

As Sulfas são bacteriostáticas, apresentam espectro de ação sobretudo contra Gram-positivos, mas alguns Gram-negativos são sensíveis, assim como alguns protozoários. Todavia, com o tempo foram selecionando-se cepas resistentes, e as

Sulfas foram sendo substituídas por outras medicações mais eficazes. Com o advento do Trimetoprima, outro antimetabólico, que apresenta sinergismo com as Sulfas, elas voltaram a ser utilizadas principalmente em infecções urinárias e intestinais em seres humanos (WANNMACHER, 1968).

Um dos principais grupos de antibióticos são os betalactâmicos. Nesse grupo incluem-se as penicilinas, cefalosporinas, monobactams e carbapenêmicos. Os betalactâmicos atuam sobre a síntese da parede celular, através da interação do anel betalactâmico (SIQUEIRA-BATISTA & GOMES, 2010).

As penicilinas podem ser agrupadas em Penicilinas naturais, que é o caso da Penicilina G, que deriva do fungo *Penicillium* sp., aminopenicilinas, ou Penicilinas semissintéticas, que é o caso da Amoxicilina e da Ampicilina, Penicilinas resistentes às betalactamases, que é o caso da Meticilina e Oxacilina, ou ainda Penicilinas anti-pseudomonas, que é o caso da Piperacilina. O principal mecanismo de ação das Penicilinas se dá através da *Penicilin Binding Protein* (PBP), que impede a formação do Peptidoglicano, e consequentemente leva a lise osmótica da célula bacteriana (SIQUEIRA-BATISTA & GOMES, 2010). A principal diferença das Penicilinas resistentes às betalactamases para as Penicilinas naturais está no anel betalactâmico sintetizado quimicamente, cuja ação das betalactamases é significativamente menor. Já as aminopenicilinas são sensíveis às betalactamases, sendo muitas vezes associadas com inibidores como o Ácido Clavulânico, Sulbactam e Trazobactam. A principal vantagem das aminopenicilinas é a ação sobre bactérias Gram-negativas, uma vez que as demais são estreito espectro de ação, apenas sobre bactérias Gram-positivas, e a possibilidade de administração oral (SPINOSA, 2019^a).

As Cefalosporinas derivam do fungo *Cephalosporium* sp. e possui anel betalactâmico semelhante às penicilinas. As cefalosporinas são agrupadas em “gerações”, que compartilham características e espectro de ação, conforme a ordem cronológica que foram desenvolvidas. Muitas características são compartilhadas entre penicilinas e cefalosporinas, além do mecanismo de ação, como a baixa toxicidade (SPINOSA, 2019^a).

As cefalosporinas de primeira geração englobam, entre outras, a Cefalotina, Cefazolina e Cefalexina. Elas possuem ação basicamente contra Gram-positivas, e ação contra *S. aureus* produtores de penicilinas, mas não contra produtores de betalactamases. A Cefalotina e Cefazolina foram as primeiras cefalosporinas

desenvolvidas, sendo a Cefalotina amplamente utilizada como antibioticoprofilaxia cirúrgica. Já a Cefazolina apresenta longa meia-vida, sendo essa uma vantagem logística, pois permite intervalos maiores entre a administração de doses (FUCHS, 1998). A Cefalexina surge como uma opção passível de administração oral, sendo também utilizada pela via intra-mamária em bovinos leiteiros.

As Cefalosporinas de segunda geração incluem, entre outras, a Cefuroxima e a Cefoxitina. Atualmente a Cefoxitina é recomendada para testar a resistência à meticilina (CLSI, 2024). A segunda geração de cefalosporinas possuem espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além da possibilidade de atravessar a barreira hematoencefálica (FUCHS, 1998). A Cefuroxima apresenta opção de administração oral, ou parenteral, sendo que a via de administração precisa ser considerada nos antibiogramas, uma vez que o intervalo de leitura para classificação da susceptibilidade varia conforme a via (CLSI, 2024).

A terceira geração de cefalosporinas incluem a Cefotaxima e Ceftriaxona, além do Ceftiofur. A Ceftriaxona e Cefotaxima apresentam boa penetração em barreira hematoencefálica, assim como excelente ação contra enterobactérias, entretanto sua eficácia contra *S. aureus* é limitada (FUCHS, 1998). Já o Ceftiofur é uma medicação de uso veterinário, muito utilizado no tratamento de infecções generalizadas em grandes animais (CONSTABLE et al., 2021).

Até pouco tempo, a quarta geração de cefalosporinas, cujo representante é o Cefepima, era a mais moderna disponível. Entretanto com o desenvolvimento da Ceftarolina a quinta geração passou a ser a mais moderna. A Ceftarolina está registrada no Brasil, mas sua utilização depende de importação, já a análoga Ceftobiprole não é comercializado no país. A grande vantagem da 5ª geração de cefalosporinas é a eficácia demonstrada contra cepas de *S. aureus* resistentes tanto à Meticilina, e até mesmo à Vancomicina (DUPLESSIS, et al., 2011; SADER et al., 2025).

Os Monobactams, cujo principal representante é o Aztreonan possuem ação apenas contra Gram-negativos (SPINOSA, 2019^a). Já os carbapenêmicos, que incluem o Imipeném, Meropeném e Ertapeném, possuem amplo espectro de ação (FUCHS, 1998). Os carbapenêmicos atuam impedindo a síntese da parede celular, atuando de forma bactericida (SIQUEIRA-BATISTA & GOMES, 2010).

O Imipeném é um carbapenêmico que atualmente é pouco utilizado. A biotransformação do fármaco leva a formação de um metabólito tóxico, sendo necessária a associação em 1:1 de Cilastatina, que atua de forma enzimática de forma a inibir a toxicidade do fármaco (SPINOSA, 2019^a). Já o Meropeném não apresenta a formação desse metabólito tóxico, apresenta amplo espectro sendo considerado última linha de tratamento (MAPA, 2022).

O Ertapeném por sua vez apresenta a vantagem de apresentar longa meia-vida, e é utilizado para tratamentos fora das Unidades de Terapia Intensiva (UTI) em seres humanos, com eficácia até mesmo contra enterobactérias produtoras de betalactamases de espectro ampliado (ESBL) (HUANG et al., 2023). O Ertapeném não apresenta eficácia contra *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp. e *Acinetobacter* spp., podendo ser utilizado em protocolos que visem poupar carbapenêmicos com ação sobre esses microrganismos (ZEQUINÃO et al., 2020).

Muitos antimicrobianos atuam sobre a chamada “síntese proteica”, e “DNA bacteriano”. Diferentemente das células eucarióticas, nas bactérias o DNA encontra-se livre no citoplasma, e os ribossomos possuem as subunidades 30S e 50S. Essas subunidades permanecem livres no citoplasma, e formam um complexo no momento da tradução gênica para síntese de proteínas. Esse mecanismo envolve diferentes enzimas desde a transcrição do DNA cromossomal para m-RNA, até a obtenção das sequências peptídicas. Essas diferentes enzimas, subunidades ribossomais e o próprio DNA e seus processos de multiplicação podem ser sítios-alvos de moléculas antimicrobianas (QUINN et al., 2019).

Os Aminoglicosídeos são antimicrobianos que se ligam a subunidade 30S provocando a formação de proteínas defeituosas. Sua ação depende da penetração na célula bacteriana, que ocorre por mecanismo ativo. Devido à essa característica, a associação com antibióticos que atuam sobre a parede confere sinergismo e aumenta o espectro de ação (SPINOSA, 2019^a).

São exemplos de aminoglicosídeos a Amicacina, a Gentamicina, a Neomicina e a Estreptomicina. Essas medicações são eficazes contra bactérias Gram-negativas, e contra estafilococos. A gentamicina possui boa distribuição em tecido pulmonar, sendo utilizada para tratar infecções de trato respiratório (SPINOSA, 2019^b). Por apresentar sinergismo com princípios ativos que atuam sobre parede, diversos produtos comerciais de uso veterinário, especialmente destinados a bovinos,

apresentam associações de betalactâmicos, como penicilinas e cefalosporinas com aminoglicosídeos, assim como pomadas tópicas de uso humano e produtos de uso intra-mamário para tratamento de mastites.

Uma importante limitação dos aminoglicosídeos é a toxicidade. Além de apresentar ototoxicidade, tanto em nível coclear, quanto vestibular, podem levar a nefrotoxicidade, e bloqueio da placa neuromuscular, por atuarem em receptores colinérgicos. A estreptomicina também pode levar a neurites periféricas. Por possuírem interação com cálcio, durante a administração intravenosa podem levar o animal à bradicardia (SPINOSA, 2019^b).

Assim como os aminoglicosídeos, as tetraciclinas atuam também sobre a subunidade ribossomal 30S, porém impedindo que o RNA-transportador se fixe, levando a uma interrupção da síntese proteica. Com origem no fungo *Streptomyces* sp., as tetraciclinas possuem amplo espectro de ação, inclusive sobre bactérias intracelulares (SPINOSA, 2019^c).

As tetraciclinas são eminentemente bacteriostáticas, entretanto, se aumentada a dose, passam a atuar também sobre a membrana citoplasmática, e levam a lise da mesma, tornando-as bactericidas (SEMENOVA et al., 2025). São exemplos de tetraciclinas de uso rotineiro a Doxiciclina e a Oxitetraciclina. São moléculas lipossolúveis, atravessando até mesmo a barreira placentária, por isso, associado com a capacidade de ligação com o cálcio, não devem ser administradas a fêmeas prenhes, pois podem levar a más formações fetais.

Os Afenicóis, como o Cloranfenicol, possuem ação sobre as duas subunidades ribossomais. Sobre a subunidade 30S impede a ligação do m-RNA, e sobre a unidade 50S liga-se de forma irreversível, impedindo a formação de polipeptídeos (SIQUEIRA-BATISTA & GOMES, 2010). São bacteriostáticos, mas estão proibidos para uso em animais destinados a produção de alimentos no Brasil, pois as moléculas estão associadas à anemia aplástica em seres humanos (VIANA, 2019).

As lincosamidas, como a Clindamicina, os macrolídeos como a Eritromicina e as Oxazolidinonas, como a Linezolida, atuam sobre a porção 50S do ribossomo bacteriano, sendo efetivas contra germes Gram-positivos (SIQUEIRA-BATISTA & GOMES, 2010). A Clindamicina apresenta ação contra *S. aureus*, sendo uma alternativa aos betalactâmicos em infecções de pele e tecidos moles (COSTA &

FUCHS, 1998). Já os macrolídeos tem seu uso limitado na medicina veterinária. Na administração via oral, especialmente para pequenos animais, a Eritromicina passa por biotransformação hepática, sendo que 90% é eliminada pela via biliar. Já o uso parenteral leva a irritação tissular (SPINOSA, 2019^c).

A Linezolida é uma medicação considerada de última linha, normalmente reservada para uso em UTIs humanas (MAPA, 2022). É bacteriostática, e atua deformando o t-RNA (SIQUEIRA-BATISTA & GOMES, 2010). Apesar de ocupar o topo da pirâmide de escolha mecanismos de resistência já foram descritos, bem como já foi identificada resistência à Linezolida por cepas de *S. aureus* por mecanismo ainda hoje desconhecido (YANG et al., 2025).

Os glicopeptídeos, grupo que inclui a Vancomicina e Teicoplanina, atuam na célula bacteriana impedindo a síntese da parede celular, impedindo a transpeptidação, por ligar-se a D-alanina (SPINOSA, 2019^d). São antibióticos bactericidas, com ação contra cocos Gram-positivos, de uso restrito, que requerem administrações longas, por serem tempo-dependentes. A Vancomicina por muito tempo foi a última linha de escolha para o tratamento de cepas multirresistentes de MRSA. Entretanto já foi relatado o surgimento de cepas de *S. aureus* com sensibilidade intermediária à Vancomicina (VISA) e até mesmo resistentes à Vancomicina (VRSA) (PARTRIDGE et al., 2018).

A Vancomicina requer administração intravenosa, pois não é absorvida no tubo digestivo, e causa danos tissulares se administrada pela via intramuscular. Uma outra restrição importante é quanto ao tempo de meia-vida, que em seres humanos é cerca de seis horas, e em pequenos animais pode chegar a duas horas (SPINOSA, 2019^d). Não existem produtos a base de Vancomicina, ou Teicoplanina registrado para uso em bovinos no Brasil (Portal MAPA, 2026).

Os lipopeptídeos por sua vez, atuam assim como os glicopeptídeos, impedindo a síntese da parede celular. A Bacitracina é a principal representante do grupo, e além da atuação sobre a parede celular também altera a solubilidade da membrana plasmática, levando a lise celular. É um antibiótico com ação contra bactérias Gram-positivas, mas que devido a toxicidade não possibilita o uso sistêmico, sendo associada em formulações tópicas e de uso intra-mamário (SPINOSA, 2019^d).

Em nível laboratorial a Bacitracina foi tradicionalmente utilizada para diferenciar espécies, como o *Streptococcus pyogenes*, devido a sua susceptibilidade intrínseca, através de antibiograma por disco-difusão em ágar. Já o teste de disco-difusão em ágar para Bacitracina para espécies como *S. aureus* possui limitações, pois não há um ponto de corte com 100% de sensibilidade e 100% de especificidade, sendo necessário utilizar testes que façam diluições seriadas para obtenção da MIC (BAKER et al., 1986).

O DNA bacteriano é outro importante sítio de ação dos antimicrobianos. Justamente sobre as enzimas que levam a multiplicação desse DNA que atuam as Rifamicinas. Esse grupo de antibióticos foi uma importante revolução da farmacologia médica, pois apresentou eficácia contra Gram-positivos, e a Rifampicina, uma das moléculas pertencentes à essa família, apresentou eficácia contra *Mycobacterium* spp. e outras bactérias intracelulares, de importância zoonótica, como a *Brucella* spp., e de importância veterinária como *Rhodococcus equi*. Não obstante, a resistência à essa molécula normalmente é incorporada pela associação com outras moléculas, durante a implementação de protocolos terapêuticos (SPINOSA, 2019^b).

Outra classe de medicações antimicrobianas com atuação sobre topoisomerasas são as Quinolonas. Essa classe de medicações é bactericida, assim como as cefalosporinas são agrupadas em gerações, entretanto, não possuem origem biológica, sendo consideradas fármacos quimioterápicos. Sua ação sobre as topoisomerasas bacterianas é de inibição, portanto o uso conjunto com outras substâncias antimicrobianas cujo sítio de ação é o DNA gera antagonismo (GÓRNIK, 2019).

A primeira quinolona desenvolvida foi o Ácido Nalidíxico, cujo espectro de ação é limitado a espécies Gram-negativas, em especial a família *Enterobacteriaceae*, e também não possui ação sobre *Pseudomonas* spp. Buscando aumentar o espectro de ação, foram desenvolvidas as Fluorquinolonas, dando origem à segunda geração. O espectro de ação desse grupo abrange além de espécies da família *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* (BARROS et al., 1998). No grupo das Quinolonas de 2ª geração existem princípios ativos de uso exclusivo veterinário, que é o caso do Enrofloxacin e do Morbifloxacin, além de princípios ativos usados por seres humanos e animais, que é o caso do Ciprofloxacin e Norfloxacin. No caso de

testes de resistência a antimicrobianos, o CLSI (2024) recomenda que somente bactérias isoladas de trato geniturinário sejam testadas para o Norfloxacino.

Buscando aumentar o espectro de ação, foram desenvolvidas as Quinolonas de terceira geração, que é o caso do Moxifloxacina e Levofloxacina. O aumento de gerações aumentou o espectro de ação, inclusive contra MRSA, entretanto há risco de fotossensibilização e cardiotoxicidade à terceira geração. Foi também desenvolvida uma quarta geração, através do Travafloxacino, mas seu acesso é extremamente restrito, pois em seres humanos constatou-se que causa necrose hepática (GÓRNIK, 2019).

Diversas outras medicações antimicrobianas foram desenvolvidas, sempre em face ao surgimento de cepas mais resistentes, ou tentando debelar aspectos de toxicidade. Entretanto o ritmo de surgimento de cepas bacterianas resistentes pode acabar por superar a capacidade de desenvolvimento de novos antimicrobianos, sendo essa uma preocupação atual da OMS (OMS, 2024).

2.5 *Staphylococcus coagulase positiva*

A espécie *S. aureus* vêm sendo estudada sob vários aspectos há muito tempo. É uma espécie de distribuição global, comensal da pele e mucosas de animais de sangue quente, que faz parte do grupo de estafilococos coagulase positiva. Esse grupo de espécies do gênero *Staphylococcus* spp. caracteriza-se pela produção da enzima coagulase, responsável por ativar o fibrinogênio, convertendo-o em fibrina. (SMELTZER, & BEENKEN, 2016). Além da espécie *S. aureus*, outras espécies como *S. intermedius* e *S. hyicus* fazem parte do grupo coagulase positiva, ainda que *S. aureus* seja a principal.

S. aureus está associada com a ocorrência de diversas doenças em seres humanos e animais. Na espécie humana além de infecções de pele e tecidos moles, já foi associada com infecções em trato respiratório, infecções urinárias e até mesmo infecções generalizadas, diagnosticadas através de hemocultura (OLIVEIRA et al., 2015). No Brasil já foi relatado que cerca de um quarto das infecções hospitalares em leitos de UTIs eram causadas por *S. aureus* (BARROS et al., 2012).

Além de causar infecções, existe uma associação entre a produção da enzima coagulase, com a produção de enterotoxinas, que levam a uma DTHA. A produção dessas toxinas ocorre quando espécies de *Staphylococcus* coagulase positiva estão presentes em altas contagens no alimento, em meio aeróbico e em temperatura ambiente (cerca de 25°C). É importante destacar que são toxinas termoestáveis, ou seja, resistentes ao cozimento e tratamento térmico. Quando assimiladas pelo ser humano provocam mal-estar generalizado, êmese, podendo levar a quadros graves em função da desidratação (SILVA et al., 2017).

Em face ao potencial lesivo de altas contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva nos alimentos, diversas medidas foram adotadas para obrigar os estabelecimentos a adotarem medidas que impeçam altas contagens dessas bactérias em alimentos. Pode-se citar como exemplo a portaria 146/1996 do MAPA que estipula o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) para os derivados lácteos, onde a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva precisa ficar abaixo de 1000 UFC/g, sendo que a contagem mínima para produção de toxinas seria 10^5 UFC/g.

Apesar da legislação vigente KOMATSU et al. (2010) em Minas Gerais e TAVARES et al. (2019) no Rio Grande do Sul encontraram respectivamente 88% e 80% de suas amostras de queijos obtidas em comércios locais com contagens acima do permitido. Cabe ressaltar que não se tratava de produtos com procedência conhecida.

A metodologia oficial de análise utilizada para contagem do *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos segue a ISO 6888-1 (1999), que verifica através da capacidade de coagulação do plasma a proporção de isolados coagulase positiva que cresceram em placas de ágar Baird-Parker. Entretanto, essa análise pode ser limitada caso o gene *coa*, produtor da enzima coagulase, apresente alguma mutação. O estudo de LOCATELLI et al. (2022) encontrou cepas de *S. aureus* sem a capacidade de coagular o plasma, devido a uma mutação justamente no gene que produz a enzima coagulase, abrindo espaço para o questionamento para a sensibilidade da técnica de diagnóstico fenotípica, ainda que não se saiba sobre as repercussões sobre a produção de toxinas nas cepas mutadas.

Além de acometer o ser humano, mamíferos domésticos também são infectados por espécies de *Staphylococcus* coagulase positiva, sendo *S. aureus* uma

das principais causa de mastites em bovinos leiteiros, por exemplo (MARTINS et al., 2015). Nesse sentido, VALESCO et al. (2015) buscou comparar a similaridade entre isolados obtidos de diferentes espécies de hospedeiros e em produtos de origem animal, em uma mesma região geográfica, e constatou que a similaridade que encontrou entre isolados provenientes de carne crua e seres humanos se deu decorrente a contaminação no processamento dos produtos, pelos próprios seres humanos.

Atualmente a maior preocupação relacionada ao *S. aureus* ocorre acerca da resistência aos antimicrobianos. Diversos estudos ao redor do mundo têm relatado resistência a praticamente todos os princípios ativos. São exemplos o trabalho de PARDO et al., (2019) no Uruguai, que encontrou em isolados de seres humanos além de resistência a Eritromicina e Clindamicina, que eram seu objeto de estudo, encontrou isolados com resistência à Sulfametoxazol com Trimetoprima, Tetraciclina, Ciprofloxacino e Gentamicina. Já AOUATI et al. (2021) encontrou 80% de seus isolados oriundos de pessoas hospitalizadas em UTIs MRSA.

O trabalho de LOZANO et al., (2011) encontrou em um conjunto de 278 pessoas saudáveis, uma portadora de MRSA, que mesmo após tratamento, permaneceu portadora assintomática. Apesar de ser um baixo índice, representando 0,4% do total de pessoas analisadas, revelou que existe a possibilidade de veiculação assintomática de MRSA.

Sob a óptica da saúde animal no Brasil a perda de sensibilidade de *S. aureus* envolvida em infecções foi relatada em mastites até mesmo frente a Vancomicina (FILHO et al., 2007). A resistência aos diferentes princípios ativos é causada por diferentes genes. O gene *BlaZ*, responsável pela produção da enzima betalactamases é o mais prevalente no mundo, quando fala-se especificamente em isolados provenientes de rebanhos leiteiros (MONISTERO et al., 2019).

Além do gene *BlaZ*, outro importante grupo de genes são os genes *mec*, sendo os mais comuns *mecA* e *mecC*. Esses genes estão associados com a resistência as penicilinas antiestafilocócicas, e já foram detectados em rebanhos leiteiros, e até mesmo animais silvestres, mostrando o quão disseminados estão os MRSA (LAKHUNDI & ZHANG, 2018).

A multirresistência por sua vez, decorre da mistura da presença de vários genes. Ao mesmo tempo, diferentes genes podem conferir resistência à diferentes fármacos, pertencendo eles a mesma classe de antimicrobianos, ou não. Esse é o caso do gene *cfr*, que confere resistência a Afenicois, lincosamidas e até mesmo à Oxazolidinonas (PARTRIDGE et al., 2018).

Já foram identificados genes de resistência aos aminoglicosídeos *aacA*, *aphD*, *aadD* e *aphA-3*. Da mesma forma, diferentes genes foram identificados em *S. aureus* conferindo resistência às Tetraciclina, sendo eles os genes *tetK*, *tetL* (PARTRIDGE et al., 2018).

Frente aos antimicrobianos Macrolídeos, Lincosamidas e Estrepogaminas, também chamados “MLS”, que possuem o mesmo sítio alvo nos microrganismos, existem os genes *erm*. Diferentes variações desse gene já foram encontradas em *S. aureus*: *ermA*, *ermB*, *ermC*, *ermF*, *ermT*. Uma vez presente, esse gene confere resistência a todos os antimicrobianos do grupo MLS (PARTRIDGE et al., 2018)

A mistura de genes de resistência normalmente ocorre em plasmídeos, que assimilam novos genes com facilidade, há uma reorganização dos mesmos, e a manifestação da multirresistência. Por outro lado, esses genes de plasmídeos podem ser incorporados ao DNA cromossomal, e/ou doados para outros microrganismos. Esses genes móveis, chamados de “Transposons” são a forma mais eficaz de disseminar a multirresistência. Dessa forma algumas cepas de *S. aureus* que desenvolveram resistência até mesmo frente à Vancomicina, através do transposon Tn1546, que carrega o gene *VanA* (PARTRIDGE et al., 2018).

Mesmo que estejam presentes no genótipo bacteriano, o fenótipo pode não manifestar os genes de resistência, devido a condições ambientais. Nesse sentido, o simples diagnóstico de antibiograma pode acabar por mascarar a presença de genes de resistência, sendo necessário o uso de técnicas moleculares, como a reação em cadeia de polimerase (PCR), para a identificação desses genes (MARTINEAU et al., 2000).

A manifestação fenotípica da resistência para um mesmo antimicrobiano pode ser a mesma para diferentes genes, ou não. O gene *tetK* relacionado à resistência às tetraciclina, por exemplo promove que haja um efluxo ativo dos antibióticos, enquanto o gene *tetM* leva à uma modificação no sítio de ligação ribossomal. Já no caso dos

aminoglicosídeos, os genes relacionados promovem a acetilação das moléculas antimicrobianas, inativando-as enzimaticamente (WENDLANDT et al., 2013).

No sentido de verificar perfis de susceptibilidade nos diferentes hospedeiros, RAO et al. (2022) buscou caracterizar fenotipicamente e genotipicamente isolados de *S. aureus* em potros, suínos, bovinos de corte, bovinos leiteiros e seres humanos. Verificou que havia menor susceptibilidade aos antimicrobianos em isolados provenientes de suínos e de seres humanos, na maioria dos antimicrobianos, assim como encontrou a maior resistência à Penicilina, e não encontrou resistência à Oxacilina em bovinos leiteiros.

Diversas, amplas e inesgotáveis frentes de estudo podem ser feitas acerca de genótipos e perfis de susceptibilidade de *S. aureus*, uma vez que é uma bactéria que convive intrinsecamente com o ser humano e animais domésticos. Deve-se dar especial atenção aos bovinos leiteiros, pois além de conviverem com o ser humano, produzem alimentos destinados ao consumo humano, e justamente o sistema mamário pode ser acometido por patologia grave causada por *S. aureus*, e acabar retornando para o próprio ser humano.

3 Artigos

3.1 Artigo 1

PREVALENCE OF MASTITIS IN THE SOUTHERN REGION OF RIO GRANDE DO SUL AND THE PRESENCE OF COAGULASE-POSITIVE *STAPHYLOCOCCUS*.

Autores:

Lucas Schaefer Batista, Helenice Gonzalez de Lima, Giselda Maria Pereira, Larissa Jordão de Arruda Câmara, Andréia da Silveira Lucas, Rita de Cássia dos Santos da Conceição, Fábio Rafael Pascotti Brum, Maria Gabriela Custódio Kobayashi, Luisa Pereira de Barros, Maria Eduarda Fortes Gonçalves, Beatriz Bagarollo Dauar e Patrícia da Silva Nascente.

Será submetido à revista Journal of Dairy Science – Qualis A1

STAPHYLOCOCCUS MASTITIS IN RIO GRANDE DO SUL

Prevalence of mastitis in the southern region of Rio Grande do Sul and the presence of coagulase-positive *Staphylococcus*

L. S. Batista,¹ H. G. Lima,¹ G. M. Pereira,² L. J. Arruda-Câmara,¹ A. S. Lucas,³ R. C. S. Conceição,¹ F. R. P. Brum,¹ M. G. C. Kobayashi,¹ L. P. Barros,¹ M. E. F. Gonçalves,¹ B. B. Dauar¹ and P. S. Nascente⁴

¹Veterinary College of Federal University of Pelotas – Pelotas – Rio Grande do Sul state – Brazil;

²Department of Statistics and Mathematics of Institute of Mathematics and Physics of Federal University of Pelotas – Pelotas – Rio Grande do Sul state – Brazil;

³Company of Technical Assistance and Rural Extension of Rio Grande do Sul State (EMATER/RS) – Rio Grande – Rio Grande do Sul state – Brazil;

⁴Department of Microbiology and Parasitology of Biology Institute of Federal University of Pelotas – Pelotas – Rio Grande do Sul – Brazil;

Corresponding authors:

Lucas Schaefer Batista – lbatistasul@gmail.com

Patrícia da Silva Nascente – pattsn@gmail.com

ABSTRACT

Bovine mastitis is the main disease affecting dairy cattle. Studies frequently point to *Staphylococcus aureus* as the main agent involved in mastitis. This bacterium is considered priority pathogen for multidrug resistance by the World Health Organization (WHO) when it is methicillin-resistant (MRSA). The objective of this study was to determinate the prevalence of clinical, subclinical, and coagulase-positive *Staphylococcus* mastitis in herds in the southern region of the Rio Grande do Sul State, in southern Brazil. A total of 614 animals from 20 different farms were evaluated, comprising 2456 mammary quarters, obtaining 678 milk samples. The diagnosis of clinical mastitis was made using the dark-bottomed cup test, the diagnosis of subclinical mastitis was made using the Californian Mastitis Test (CMT), and the diagnosis of the etiological agents was made through milk culture of mammary quarters positive for clinical or subclinical mastitis. The prevalence of clinical mastitis was 6.85%, and subclinical mastitis was 41.93%. Coagulase-positive *Staphylococcus* spp. was the most prevalent agent, appearing in 20.65% of the samples. Pre-dipping disinfection teats and milking systems (bucket-at-the-foot, pipeline, or robotic) did not affect prevalence and were not considered a risk factor for mastitis. A negative correlation was observed between herd size and mastitis prevalence, with the larger the herd, the lower the prevalence.

Key-words: Mastitis prevalence; Risk Factors; Epidemiology.

Nonstandard abbreviations: MRSA = Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*; CMT = Californian Mastitis Test; BHI = Brain-Heart-Infusion; CEUA-UFPEL = Ethic Committee for Animals Use; WHO = World Health Organization.

INTRODUCTION

Mastitis is the main pathology of dairy herds (Moreira et al., 2024). It not just affects negatively the health and animal's welfare, as demonstrated by Schenkenfelder and Winckler (2021), it also leads to economic losses as demonstrated by Benítez et al. (2025), with the costs of treatments and resulting losses.

As Lirot et al. (2025) demonstrated, several etiologies are associated with mastitis. The disease can be classified epidemiologically as "environmental", when the reservoir of the pathogen is the environment, or as "contagious", when the reservoir is the own animals. According to Meçaj et al. (2023), they can be classified as "clinical," when it manifests clinical signs, or "subclinical," when it does not manifest clinical signs. According to Gonçalves et al. (2023) subclinical mastitis is a concern, because it is difficult to be detect, but the agent is present, causing injury to the animal's mammary tissue, loss of milk production and milk quality.

According to Dego and Vidlung (2024), *Staphylococcus aureus* is frequently present. In the southern region of the State of Rio Grande do Sul, Brazil Dal Vesco et al. (2017) found *Staphylococcus* spp. as the predominant genus, with the proportion of coagulase-negative species being greater than that of coagulase-positive species.

In 2024, the World Health Organization (WHO) classified Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as a bacterium of concern for multidrug resistance. Because *S. aureus* is a common bacterium in mastitis in the southern region of the state of Rio Grande do Sul, Brazil, according to Bandeira et al. (2013), it is necessary to monitor its prevalence in herds in the region, as well as understand the risk factors for mastitis developing.

Based on this perspective, this study aimed to establish the prevalence of clinical and subclinical mastitis in the southern region of Rio Grande do Sul State, Brazil. Secondarily this

study also aimed evaluate risk factors and correlate with the etiological agents such as coagulase-positive *Staphylococcus* spp.

MATERIALS AND METHODS

For this study 20 dairy farms were selected and visited, between 2024 and 2025, distributed across six cities in the southern region of Rio Grande do Sul - Brazil: three in São Lourenço do Sul, two in Cerrito, three in Capão do Leão, four in Pelotas, one in Morro Redondo, and seven in Rio Grande. The selection was non-probabilistic to facilitate access to the locations.

The number of farms was the same as that visited by Dal Vesco et al. (2017) in a similar study in the same region. Those farms included practicing subsistence family farming, large dairy farms, properties where dairy farming is only for the family's own consumption and/or those employees' consumption, as well were visited farms dedicated to agricultural technical education. This approach includes the most diverse levels of specialization and socioeconomic conditions, as indicated by the socioeconomic report of the milk production chain in Rio Grande do Sul State (Emater, 2025).

As begin, each farm was classified according to the type of milking system, such as bucket-on-foot milking, pipeline milking, or robotic milking. The number of animals being milked and using, or not, pre-dipping as antiseptis for milking were verified. These characteristics are study by Pankey (1989), Abele et al. (2023), and Deng et al. (2021) as possible risk factors for developing mastitis in herds.

The inclusion criterion used was all animals that were lactating on visiting day. The exclusion criteria were animals in the colostrum phase, or animals whose individual health conditions, as determined by veterinary assessment, prevented their use in the study, or whose handling could worsen the cow's clinical condition in any way. The characterization of animals

in the colostrum phase followed the criteria of article 236 of decree 9.013 of March 29, 2017 (Brazil, 2017), and the exclusion of animals followed the bioethical principle of non-maleficence (Sgreccia, 1988).

There were animals of the Holstein and Jersey breeds, their crosses, as well as crossbred animals of these two breeds. There were no animals of zebu breeds, synthetic breeds, neither hybrid, or crossbreds with them. According to the Socio-Economic Report of the Milk Production Chain in Rio Grande do Sul (Emater, 2025), the main breeds raised for milk production in Rio Grande do Sul State are Holstein and Jersey, respectively.

For this study, each cow was evaluated individually, in each mammary quarter, during milking, at the usual milking time of each farm. The presence of clinical mastitis was detected by the dark-bottomed cup test, and subclinical mastitis by the Californian Mastitis Test (CMT), as also performed by Kandeel et al. (2018) and Dal Vesco et al. (2017).

Each mammary quarter was evaluated individually, being classified as "healthy", "clinical mastitis", "subclinical mastitis grade one cross", "subclinical mastitis grade two crosses", "subclinical mastitis grade three crosses" or "atrophied/non-functional" when non-functionality of the quarter was detected. The classification as clinical considered the presence of purulent secretion, serous secretion, bloody secretion, clots, or any alteration visible by naked eye. The diagnosis of subclinical mastitis, and its classification into the three grades, considered the viscosity formed in the CMT, evaluated with the naked eye by a research team trained for this evaluation, and followed the methodological recommendations of Santos and Fonseca (2019).

Animals with mastitis had individual samples collected from the affected mammary quarters, if they were not fibrosed, regardless of whether they were receiving any treatment. In total, 678 samples were processed, each from a different mammary quarter. The samples were taken for milk culture looking to try to identify the etiological agent.

Initially, an aliquot of 10 mcl was seed in plates containing base agar enriched with 5% defibrinated blood. The plates were incubated at 37°C, with a reading after 24 hours, and in case of no growth observed, a second reading after 48 hours were done.

After incubation, macroscopic evaluation of the colonies was performed. On the plates where growth occurred, differentiating them to evaluate microscopically separately, colonies with different macroscopic characteristics.

For microscopic evaluation, slides were prepared and Gram staining was performed. The Gram-positive colonies, with bacilli forms, had their tests concluded, and will henceforth be called "Gram-positive bacilli". The cocci colonies were subjected to biochemical tests. Gram-negative bacilli have been seeded in MacConkey agar plates for diagnostic purposes, following methodology of Silva et al (2017) to identify *Escherichia coli* isolates.

According to Santos and Fonseca (2019), the genera of Gram-positive cocci associated with mastitis are *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. Thus, the isolated colonies, microscopically identified as Gram-positive cocci, were subjected to the Catalase test with 10-volume Hydrogen Peroxide. Catalase-negative isolates were classified as suggestive of *Streptococcus* spp., while catalase-positive isolates were assumed to be *Staphylococcus* spp.

The *Staphylococcus* sp. isolates were multiplied in Brain-Heart-Infusion (BHI) broth, and the coagulase test was performed. From the result, they were defined as coagulase-positive *Staphylococcus* and coagulase-negative *Staphylococcus*.

From the results for clinical and subclinical mastitis, the overall prevalence and the prevalence for each farm were calculated. As the CMT result is given by grade, the different scores of mastitis in each herd were also considered.

Prevalence was calculated by the ratio between the number of sick animals and the number of susceptible animals, following Carvalho and Garcia (2017). When the same animal

presented clinical and subclinical mastitis in different mammary quarters, the more severe form was considered.

In the statistical analysis, correlations were sought with possible factors such as the use of teat disinfection before to milking through pre-dipping, milking system, and herd size. A significance level of $p < 0.05$ was considered. All data were organized in Microsoft Excel 365, and descriptive statistics were also performed using the same program. All statistical tests were performed using Bioestat 5.0 program.

The study also verified if there is a correlation between herd size and prevalence on the farm. Spearman's correlation coefficient was used between the number of animals and the total prevalence of mastitis on each farm. To assess the association between milking system types and mastitis levels, a Chi-square test was performed, considering the different scores of mastitis in the different mammary quarters.

To assess whether there is an association between the use, or not, of pre-dipping and the prevalence of mastitis per farm, the Mann-Whitney test was used. To assess whether there is a difference between clinical or subclinical mastitis, considering each mammary quarter, Fisher's exact test was performed. Finally, the Chi-square test was used to test whether there is a relationship of dependence of mastitis score, considering the results of the CMT, or clinical mastitis, of each mammary quarter.

This study was submitted and approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of the Federal University of Pelotas (CEUA/UFPEL) and is registered by number 021682/2024-28. All evaluations and collections on the different farms happen in the presence of a Veterinary.

After the end of study, the isolates of interest for future studies was stoked at bacteria bank of Veterinary College of Federal University of Pelotas. All viable bacteria in plates, or

any other material was destroyed by autoclave for 125°C for 30 minutes, and the solid residual was sent to incineration by a company specialist in management of contaminated material.

RESULTS

The farms were named from one to twenty, in chronological order of visit. In total, 614 animals were examined, with the number of animals on the farms ranging from one to 114, as shown in Table 1. A total of 2456 mammary quarters were considered, of which 34, corresponding to 1.38%, were non-functional, either due to atrophy or severe fibrosis, preventing them from being examined. Were verified 1738 healthy mammary quarters, corresponding to 70.77%.

The prevalence of clinical mastitis among the 614 animals, considering sick and healthy animals, was 6.85%, corresponding to 42 sick cows. The average between all animals, occurrence of clinical mastitis, considering the total 2456 mammary quarters, was 3.01%, equivalent to 74 mammary quarters. Individually, on the farms, the average prevalence was 0.83%, with a standard deviation of 6.46%, ranging from 25% to 0%. The results are shown in Table 2.

The prevalence of subclinical mastitis among the 614 animals, considering sick and healthy animals, was 41.93%, corresponding to 257 cows. The evaluation of the mammary quarters and their different scores of mastitis showed that 608 mammary quarters were affected, corresponding to 24.76% of the total mammary quarters. The discriminating results are shown in Table 3.

From 20 farms, 14 routinely use disinfection teat with pre-dipping before milking, and six do not. The most frequently verified milking system was the pipeline system, used by 12 farms. Seven farms used the "bucket-by-foot" milking system, and one used a robotic system. All farms had adequate milking space, according to Normative Instruction 77 of November 30,

2018, from the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (Brazil, 2018^b), which defines the conditions for good agricultural practices for dairy production. The description of the milking characteristics evaluated on the farms is found in Table 4.

Spearman's correlation coefficient between the number of animals and the total prevalence per farm verified $r_{xy}=-0,71$, indicating a moderate negative correlation, with a significant test ($p=0.00$). This demonstrates that by increasing the number of animals, the prevalence decreased.

The use of pre-dipping disinfection teats before milking did not show a significant difference in the total prevalence of the farms ($p=0.6237$). No relationship of dependence was found between the clinical manifestation of mastitis, or its subclinical score in Fisher's Exact test ($p=1$), nor was a relationship found between the mastitis score and the use or non-use of pre-dipping ($p=0.7931$).

When evaluating the possible effect of the milking system, no statistical difference ($p=0.0630$) was found between the occurrence rates of mastitis in farms with different systems. From these data, it was not possible to relate the score of mastitis to the milking system.

A total of 678 samples of mastitica milk were analyzed. Of these, 76 were from clinical mastitis, and the rest from subclinical mastitis. In the culture test, 551 samples showed bacterial growth, with 140 being coagulase-positive *Staphylococcus* spp., corresponding to 20.65%. In 127 samples no growth was observed.

Two animals were collected twice, for technical reasons, and five samples were not considered for operational reasons. Because of it, the number of samples is 678, with 682 mammary quarters affected in the 20 herds studied. In the case of the two specified cows, where there was re-collection, the bacterial growth was the same, coagulase-positive *Staphylococcus*. Table 5 shows the results found in the milk samples collected and submitted to milk culture.

Samples with bacterial growth that were not coagulase-positive *Staphylococcus* were considered Gram-positive bacilli (n=123), suggestive of *Streptococcus* spp. (n=54), suggestive of *Escherichia coli* (n=10), coagulase-negative *Staphylococcus* spp. (n=130), and bacterial isolates whose identification was totally inconclusive by the methodology used (n=94).

The most frequently occurring bacterium was coagulase-positive *Staphylococcus* spp., 20.65% of all samples, followed by coagulase-negative *Staphylococcus* spp., 19.17% of the total samples analyzed. No bacterial growth was observed in 18.73% of the samples.

DISCUSSION

Several epidemiological studies have been conducted for a time around Brazil (Harrop et al., 1975; Oliveira et al., 2011; Dal Vesco et al., 2017) looking to establish the prevalence of mastitis and its respective etiologies. Because it is a country with dairy bases distributed in many points of the national territory, as shown by Hott et al. (2025) in the 2025 Milk Yearbook, with different bioclimatological conditions and different socioeconomic conditions, making regionalized epidemiological studies is necessary, in order to consider the regional particularities that may differ significantly from other locations. In this sense, the present study focused on the southernmost region of the country.

The results found in the prevalence of mastitis are equivalent to those of other studies, such Martins et al. (2010) showing a large difference between clinical and subclinical mastitis, with subclinical mastitis being much more prevalent. Bandeira et al. (2013), in the same region of this study, had found 53.6% subclinical mastitis, after more than ten years, a lower result with 41.93% was observed. Compared with recent studies, Vieira et al. (2024), conducted in other regions of the country, where was found between 38.9% and 76%, the results of this study are close to the lowest results.

The comparison between the results in the CMT and bacterial growth, where some samples did not show growth, can be explained by limitations of the test itself, as demonstrated by Kandeel et al. (2018). The main advantage of the CMT is its practicality, low cost and that it can be used immediately before milking. The test has a good capacity to detect the inflammatory process, especially in chronic processes, according to Huang and Kasaba (2022), but according to Kandeel et al. (2018) it should not be used to determine treatments, with milk culture being more appropriate.

Subclinical mastitis is a silent problem that ends up significantly impacting milk production, as demonstrated by Gonçalves et al. (2023) and Silva et al. (2024). Possibly its high prevalence, compared to cases of clinical mastitis, is due to the difficulty in perceiving the condition. The reduction observed in this study, comparing with Bandeira et al. (2013) can be partly explained by the advent of new legislation, such as Normative Instruction 77/2018 of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (Brazil, 2018b), which makes it mandatory for dairies industries who collect the milk, to require producers to have systematic control of mastitis.

The occurrence of coagulase-positive *Staphylococcus*, the group that *S. aureus* owns, according to Smeltzer and Beenken (2016), as the most prevalent bacterium, differs from Dal Vesco et al. (2017), where the highest occurrence was of coagulase-negative species in the same region. Nevertheless, it corroborates the concern of the World Health Organization (WHO, 2024) since it is a potentially multidrug-resistant bacterium, potentially biofilm-forming and devastating to production, according to Campos et al. (2022).

The results of this study showed no difference between the type of milking system and the prevalence of mastitis. This corroborates the study by Nogara, Busanell and Zopollatto (2025), when testing two brands of automated equipment in the city of Vacaria, Rio Grande do Sul State, Brazil, just 500km away of area of coverage of this study, found no difference in the

prevalence of subclinical mastitis due to the equipment. The study conducted by Dohmen, Neijenhuis and Hogeveen (2010) pointed out that it was the interference of equipment cleaning processes that affected the health of the animals.

The use of sanitizers as decontamination teat before milking as pre-dipping did not interfere with the prevalence of clinical or subclinical mastitis, therefore, non-use cannot be characterized as a risk factor. The work of Hillerton et al. (1993) had already demonstrated that disinfecting the teat surface made no difference in the occurrence of mastitis. In the same vein, Gleeson, Flynn, and O'Brien (2018) also reached the same conclusion as Hillerton et al. (1993). However, it cannot be disregarded that pre-milking disinfection significantly reduces the population of potentially pathogenic microorganisms to the consumer on the teat surface, such as *S. aureus* itself, as demonstrated by Gleeson et al. (2009).

Based on this result, further studies are needed to determine whether the practice of using disinfectants as pre-dipping should continue today, since the active ingredients are the same as those used in surgical asepsis, such as chlorhexidine and povidone-iodine (Aftab et al., 2023). At the same time, the milk cooling temperature from the farm to the processing unit, required by current regulations (Brazil, 2018)^a (Brazil, 2018)^b would currently be sufficient to avoid the multiplication of mesophilic bacteria.

This study demonstrated that in larger herds, there is a lower prevalence of mastitis cases. The same was observed by Gantner et al. (2024).

The results of this study need to be viewed with caution, as some properties had only one cow, whose production would be destined for the family's subsistence consumption. In these cases, the detection of mastitis in that animal leads to a 100% prevalence on those farms. Therefore, the authors acknowledge that the size of the herds may be a limitation of the work. However, Mramba and Mohamed (2024) pointed out that the production conditions of farms with small herds are risk factors for the development of mastitis.

CONCLUSIONS

The prevalence of clinical mastitis in the dairy herds studied in the southern region of Rio Grande do Sul State – Brazil was 6.85%, while that of subclinical mastitis was 41.93%. The most prevalent etiological agent was coagulase-positive *Staphylococcus* spp., the group from *S. aureus*.. There was a tendency for the prevalence decreasing in larger herds. The no use of pre-dipping as disinfecting teats before milking was not a risk factor for mastitis in the experimental conditions, nor was the milking system. However, this does not mean that the practice of pre-milking hygiene teat should be abolished, as other studies have shown that it reduces contamination of the teat surface. It remains to be understood whether this practice is still advantageous for the microbiological quality of the product intended for human consumption.

NOTES

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

This study was approved by Ethic Committee for Animals Use of Federal University of Pelotas, by number 021682/2024-28. All proceeds with animals have been done under veterinary supervision looking for animals well-fear, and humans health.

The authors have not stated any conflicts of interest.

REFERENCES

Abebe, R., A. Markos, M. Abera, and B. Mekbib. 2023. Incidence rate, risk factors, and bacterial causes of clinical mastitis on dairy farms in Hawassa City, southern Ethiopia. *Sci. Rep.* 13:10945. doi:10.1038/s41598-023-37328-1.

- Aftab, R., V. H. Dodhia, C. Jeanes, and R. G. Wade.** 2023. Bacterial sensitivity to chlorhexidine and povidone-iodine antiseptics over time: A systematic review and meta-analysis of human-derived data. *Sci. Rep.* 13:347. doi:10.1038/s41598-022-26658-1.
- Bandeira, F. S., T. Picoli, J. L. Zani, W. P. Silva, and G. Fischer.** 2013. Frequência de *Staphylococcus aureus* em casos de mastite bovina subclínica na região Sul do Rio Grande do Sul. *Arq. Inst. Biol.* 80(1):1–6.
- Benítez, G., I. Cruz, and A. Larriestra.** 2025. Total cost of bovine mastitis and economic impact of improvement of udder health plans in commercial dairy herds in Uruguay. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 62:e227117. doi:10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2025.227117.
- BRASIL.** 2017. Decreto no. 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF.
- BRASIL.** 2018a. Instrução Normativa no. 76, de 26 de novembro de 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF.
- BRASIL.** 2018b. Instrução Normativa no. 77, de 26 de novembro de 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF.
- Campos, B., A. C. Pickering, L. S. Rocha, A. P. Aguilar, M. H. Fabres-Klein, T. A. Oliveira Mendes, J. R. Fitzgerald, and A. R. Oliveira Barros Ribon.** 2022. Diversity and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis: Current understanding and future perspectives. *BMC Vet. Res.* 18:115. doi:10.1186/s12917-022-03197-5.
- Carvalho, C. A., and P. T. Garcia.** 2017. Indicadores de saúde. Pages 45–51 in *Epidemiologia: conceitos e aplicabilidade no Sistema Único de Saúde*. R. S. Reis, C. A. Carvalho, J. R. O. Pinho, and P. T. Garcia, Eds. EDUFMA, São Luís, Brazil.

Dal Vesco, J., J. Siebel, G. Suzin, N. D. Cereser, and H. Gonzalez. 2017. Monitoramento dos agentes causadores de mastite e a susceptibilidade aos antimicrobianos. *Expressa Extensão* 22:34. doi:10.15210/ee.v22i1.7886.

Deng, Z., G. Koop, H. Hogeveen, E. A. J. Fischer, B. H. P. van den Borne, R. van der Tol, and T. J. G. M. Lam. 2021. Transmission dynamics of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in a Dutch dairy herd using an automatic milking system. *Prev. Vet. Med.* 192:105384. doi:10.1016/j.prevetmed.2021.105384.

Dohmen, W., F. Neijenhuis, and H. Hogeveen. 2010. Relationship between udder health and hygiene on farms with an automatic milking system. *J. Dairy Sci.* 93:4019–4033. doi:10.3168/jds.2009-3028.

EMATER/RS-ASCAR. 2025. *Relatório socioeconômico da cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul—2023*. EMATER/RS-ASCAR, Porto Alegre, RS, Brazil. Accessed Jan. 27, 2026. <https://www.sistемаfaep.org.br/wp-content/uploads/2025/09/RS-Relatorio-cadeia-produtiva-do-leite-2023-1.pdf>

Gantner, V., I. Jožef, R. Gantner, M. Gregić, and Z. Steiner. 2024. The effect of farm size on the differences in mastitis prevalence and its consequences on milk production in Holstein cows. *Proceedings* 94(1):26. doi:10.3390/proceedings2024094026.

Gleeson, D., J. Flynn, and B. O'Brien. 2018. Effect of pre-milking teat disinfection on new mastitis infection rates of dairy cows. *Ir. Vet. J.* 71:11. doi:10.1186/s13620-018-0122-4.

Gleeson, D., B. O'Brien, J. Flynn, E. O'Callaghan, and F. Galli. 2009. Effect of pre-milking teat preparation procedures on the microbial count on teats prior to cluster application. *Ir. Vet. J.* 62:461–467. doi:10.1186/2046-0481-62-7-461.

Gonçalves, J. L., G. Freu, B. L. N. Garcia, M. M. Barcelos, B. G. Alves, R. F. Leite, C. P. Monteiro, C. M. M. R. Martins, T. Tomazi, H. Hogeveen, and M. V. Santos. 2023. Effect of bovine subclinical mastitis on milk production and economic performance of Brazilian dairy farms. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 60:e208514. doi:10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2023.208514.

Harrop, M. H. V., L. J. G. Pereira, J. R. Brito, and A. M. Mello. 1975. Incidência de mastite na bacia leiteira da Zona do Agreste Meridional de Pernambuco. *Pesq. Agropec. Bras.* 10:65–67.

Hillerton, J. E., M. F. Shearn, R. M. Teverson, S. Langridge, and J. M. Booth. 1993. Effect of pre-milking teat dipping on clinical mastitis on dairy farms in England. *J. Dairy Res.* 60:31–41. doi:10.1017/S0022029900027321.

Hott, M. C., R. G. Andrade, W. C. P. Magalhães Jr., and L. A. A. Oliveira. 2025. Distribuição da produção de leite no Brasil nas duas últimas décadas. Pages 12–15 in *Anuário Leite 2025: produção de leite e as mudanças climáticas*. Embrapa Gado de Leite and Texto Comunicação, Juiz de Fora, Brazil.

Huang, C. H., and N. Kusaba. 2022. Association between differential somatic cell count and California Mastitis Test results in Holstein cattle. *JDS Commun.* 3:441–445. doi:10.3168/jdsc.2022-0249.

Kandeel, S. A., D. E. Morin, C. D. Calloway, and P. D. Constable. 2018. Association of California Mastitis Test scores with intramammary infection status in lactating dairy cows admitted to a veterinary teaching hospital. *J. Vet. Intern. Med.* 32:497–505. doi:10.1111/jvim.14876.

Kerro Dego, O., and J. Vidlund. 2024. Staphylococcal mastitis in dairy cows. *Front. Vet. Sci.* 11:1356259. doi:10.3389/fvets.2024.1356259.

- Lirot, H., L. Crespin, P. Gasqui, S. Barry, S. Masseglia, V. Poux, X. Bailly, and A. Bompard.** 2025. Longitudinal analysis reveals transitions in pathogen profiles associated with mastitis in dairy cows. *Vet. Res.* 56:231. doi:10.1186/s13567-025-01665-y.
- Martins, R. P., J. A. G. Silva, L. Nakazato, V. Dutra, and E. S. A. Filho.** 2010. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. *Ciênc. Anim. Bras.* 11:181–187. doi:10.5216/cab.v11i1.5085.
- Meçaj, R., G. Muça, X. Koleci, M. Sulçe, L. Turmalaj, P. Zalla, A. Koni, and M. Tafaj.** 2023. Bovine environmental mastitis and their control: An overview. *Int. J. Agric. Biosci.* 12:216–221. doi:10.47248/journal.ijab/2023.067.
- Moreira, M. A. S., M. M. Costa, D. G. G. Schwarz, I. F. E. Braga, I. A. Carvalho, C. L. Magna, S. L. C. Caliman, and T. C. S. Alves.** 2024. Mastites em rebanhos leiteiros. Pages 134–153 in *Cadeias leiteiras no Brasil: produção, sanidade e processamento*. L. A. Nero, L. S. Bersot, and M. M. da Costa Eds. Editora UFV, Viçosa, Brazil.
- Mramba, R. P., and M. A. Mohamed.** 2024. The prevalence and factors associated with mastitis in dairy cows kept by small-scale farmers in Dodoma, Tanzania. *Heliyon* 10:e34122. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e34122.
- Nogara, K. F., M. Busanello, and M. Zopollatto.** 2025. Relationship between subclinical mastitis occurrence and pathogen prevalence in two different automatic milking systems. *Animals* 15:776. doi:10.3390/ani15060776.
- Oliveira, C. M. C., M. G. S. Sousa, N. S. Silva, C. L. Mendonça, J. A. S. Silveira, R. P. Oaigen, S. J. T. Andrade, and J. D. Barbosa.** 2011. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.* 31:104–110. doi:10.1590/S0100-736X2011000200002.

- Pankey, J. W.** 1989. Premilking udder hygiene. *J. Dairy Sci.* 72:1308–1312. doi:10.3168/jds.S0022-0302(89)79238-9.
- Santos, M. V., and L. F. L. Fonseca.** 2019. *Controle de mastite e qualidade do leite: desafios e soluções*. Edição dos Autores, Pirassununga, Brazil.
- Schenkenfelder, J., and C. Winckler.** 2021. Animal welfare outcomes and associated risk indicators on Austrian dairy farms: A cross-sectional study. *J. Dairy Sci.* 104:11091–11107. doi:10.3168/jds.2020-20085.
- Silva, A. T. F., J. L. Gonçalves, M. V. Santos, R. M. Peixoto, R. I. Cue, and R. A. Mota.** 2024. Economic impact of staphylococcal and mammaliicoccal subclinical mastitis in dairy herds from Northeast Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 55:4167–4175. doi:10.1007/s42770-024-01548-y.
- Silva, N., M. H. T. Junqueira, V. C. A. Silveira, N. F. Taniwaki, R. A. Gomes, and M. S. Okazaki.** 2017. *Manual de análise microbiológica de alimentos e água*. 5th ed. Blucher, São Paulo, Brazil.
- Smeltzer, M. S., and K. E. Beenken.** 2016. *Staphylococcus*. Pages 189–198 in *Microbiologia Veterinária*. D. S. McVey, M. Kennedy, and M. M. Chengappa, Eds. 3rd ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brazil.
- Vieira, J. C. S., K. L. Araújo, A. C. N. Santos, H. S. T. Sá, A. E. L. M. Leite, M. Mendonça, and E. R. Silva.** 2024. Prevalence of mastitis and characterization of bacterial agents isolated from dairy herds in the microregion of Garanhuns, state of Pernambuco, Brazil. *Acta Vet. Bras.* 18:44–52. doi:10.21708/avb.2024.18.1.11961.
- World Health Organization (WHO).** 2024. *WHO bacterial priority pathogens list 2024*. WHO, Geneva, Switzerland.

Table 1: Total number of animals, mammary quarters evaluated per farm in the southern region of Rio Grande do Sul State - Brazil

Farm	Number of animals	Total mammary quarters	Number of healthy animals	Healthy animals (percentage)	Healthy mammary quarters	Healthy mammary quarters (percentage)	Not-functional mammary quarters	Not-functional mammary quarters (percentage)
1	35	140	25	71.43	126	90.00	0	0.00
2	9	36	0	0.00	4	11.11	7	19.44
3	42	168	18	42.86	112	66.67	2	1.19
4	9	36	4	44.44	24	66.67	2	5.56
5	58	232	41	70.69	199	85.78	3	1.29
6	57	228	9	15.79	102	44.74	4	1.75
7	21	84	7	33.33	35	41.67	2	2.38
8	2	8	0	0.00	5	62.50	0	0.00
9	6	24	0	0.00	2	8.33	0	0.00
10	114	456	77	67.54	364	79.82	5	1.10
11	16	64	7	43.75	48	75.00	0	0.00
12	11	44	5	45.45	28	63.64	0	0.00
13	48	192	25	52.08	150	78.13	2	1.04
14	81	324	53	65.43	282	87.04	2	0.62
15	40	160	23	57.50	121	75.63	2	1.25
16	15	60	0	0.00	19	31.67	1	1.67
17	1	4	0	0.00	0	0.00	0	0.00
18	16	64	8	50.00	42	65.63	0	0.00
19	26	104	12	46.15	65	62.50	0	0.00
20	7	28	1	14.29	10	35.71	2	7.14
Total	614	2456	315	51.30*	1738	70.77*	34	1.38*
Average	18.5	74	7.5	44.10**	45	64.63**	2	1.07**
Standard Deviation	29.42	117.66	20.51	26.13**	99.46	27.17**	1.92	4.47**
Maximum	114	456	77	71.43**	364	90.00**	7	19.44**
Minimal	1	4	0	0.00**	0	0.00**	0	0.00**
Data range	113	452	77	71.43**	364	90.00**	7	19.44**

*Result refers to the total number of animals, regardless of the farm;

**Result refers to the average across all farms;

Table 2: Clinical mastitis results in dairy herds from the southern region of Rio Grande do Sul State - Brazil

Farm	Number of Animals	Number of animals with clinical mastitis	Clinical mastitis prevalence (percentage)	Total mammary quarters	Mammary quarters with clinical mastitis	Mammary quarters with clinical mastitis (percentage)
1	35	0	0.00	140	0	0.00
2	9	1	11.11	36	1	2.78
3	42	0	0.00	168	0	0.00
4	9	0	0.00	36	0	0.00
5	58	14	10.34	232	14	6.03
6	57	20	28.07	228	20	8.77
7	21	11	23.81	84	11	13.10
8	2	2	50.00	8	2	25.00
9	6	3	50.00	24	3	12.50
10	114	14	2.63	456	14	3.07
11	16	2	6.25	64	2	3.13
12	11	0	0.00	44	0	0.00
13	48	6	10.42	192	6	3.13
14	81	0	0.00	324	0	0.00
15	40	0	0.00	160	0	0.00
16	15	1	6.67	60	1	1.67
17	1	0	0.00	4	0	0.00
18	16	0	0.00	64	0	0.00
19	26	0	0.00	104	0	0.00
20	7	0	0.00	28	0	0.00
Total	614	42	6.85*	2456	74*	3.01*
Average	18.5	0.5	1.32**	74	3.7**	0.83**
Standard Deviation	29.42	3.81	15.89**	117.66	6.04**	6.46**
Maximum	114	16	50.00**	456	20**	25.00**
Minimal	1	0	0.00**	4	0**	0.00**
Data range	113	16	50.00**	452	20**	25.00**

*Result refers to the total number of animals, regardless of the farm;

**Result refers to the average across all farms;

Table 3: Results for subclinical mastitis in dairy farms in the southern region of Rio Grande do Sul State - Brazil

Farm	Number of animals	Animals with subclinical mastitis	Subclinical mastitis prevalence (percentage)	Total mammary quarters	Mammary quarters with subclinical mastitis score +	Mammary quarters with subclinical mastitis score ++	Mammary quarters with subclinical mastitis score +++	Total of mammary quarters with subclinical mastitis	Mammary quarters with subclinical mastitis (percentage)
1	35	10	28.57	140	0	8	6	14	10.00
2	9	8	88.89	36	7	4	13	24	66.67
3	42	24	57.14	168	16	23	15	54	32.14
4	9	5	55.56	36	1	1	8	10	27.78
5	58	11	18.97	232	5	10	1	16	6.90
6	57	32	56.14	228	10	34	58	102	44.74
7	21	9	42.86	84	3	12	21	36	42.86
8	2	1	50.00	8	1	0	0	1	12.50
9	6	3	50.00	24	0	3	16	19	79.17
10	114	34	29.82	456	4	30	39	73	16.01
11	16	8	50.00	64	1	3	10	14	21.86
12	11	6	54.55	44	1	6	6	13	29.55
13	48	18	37.50	192	4	8	22	34	17.71
14	81	28	34.57	324	1	20	19	40	12.35
15	40	17	42.50	160	0	10	27	37	23.13
16	15	14	93.33	60	2	20	17	39	65.00
17	1	1	100.00	4	0	4	0	4	100.00
18	16	8	50.00	64	1	6	15	22	34.36
19	26	14	53.85	104	0	1	38	39	37.50
20	7	6	85.71	28	0	5	12	17	60.71
Total	614	257	41,86*	2456	57	208	343	608	24,76*
Average	18.5	9.5	50.00**	74	1	7	15	23	30.84**
Standard Deviation	29.42	9.85	22.16**	117.66	4.09	9.85	14.52	24.36	25.46**
Maximum	114	34	100.00**	456	16	34	58	102	100.00**
Minimal	1	1	18.97**	4	0	0	0	1	6.90**
Data range	113	33	81.03**	452	16	34	58	101	93.10**

*Result refers to the total number of animals, regardless of the farm;

**Result refers to the average across all farms;

Table 4: Milking characteristics evaluated in dairy farms from the southern region of Rio Grande do Sul State – Brazil

Farm	Number of Animals	Milking System	Use of dipping
			disinfection teat before milking
1	35	Bucket-at-the-foot	Yes
2	9	Pipeline	Yes
3	42	Pipeline	No
4	9	Bucket-at-the-foot	Yes
5	58	Pipeline	Yes
6	57	Robotic	Yes
7	21	Pipeline	Yes
8	2	Bucket-at-the-foot	No
9	6	Bucket-at-the-foot	No
10	114	Pipeline	No
11	16	Pipeline	Yes
12	11	Bucket-at-the-foot	Yes
13	48	Pipeline	Yes
14	81	Pipeline	Yes
15	40	Pipeline	Yes
16	15	Bucket-at-the-foot	Yes
17	1	Bucket-at-the-foot	Yes
18	16	Pipeline	No
19	26	Pipeline	No
20	7	Pipeline	Yes

Table 5: Bacteria isolated from mastitis milk samples of animals in dairy herds in the southern region of Rio Grande do Sul State - Brazil

	Subclinical mastitis score +	Subclinical mastitis score ++	Subclinical mastitis score +++	Clinical mastitis	Total
No growing samples	12	42	61	12	127
No coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> sp. growing samples	27	128	205	51	411
Coagulase-positive <i>Staphylococcus</i> sp. growing samples	16	39	72	13	140
Total	55	209	338	76	678

3.2 Artigo 2

EVOLUTION OF RESISTANCE IN COAGULASE-POSITIVE *STAPHYLOCOCCUS* ASSOCIATED WITH BOVINE MASTITIS IN SOUTHERN RIO GRANDE DO SUL

Lucas Schaefer Batista, Helenice Gonzalez de Lima, Rita de Cássia dos Santos da Conceição, Giselda Maria Pereira, Maria Gabriela Custódio Kobayashi, Luísa Pereira de Barros, Maria Eduarda Fortes Gonçalves, Beatriz Bagarollo Dauar, Patrícia da Silva Fernandes, Laís Guedes Cabelo, Isabel Luíza Teodoro Oliveira, Kelly Guedes, Larissa Jordão de Arruda Câmara e Patrícia da Silva Nascente.

Submetido à revista Brazilian Journal of Microbiology – Qualis A2

EVOLUTION OF RESISTANCE IN COAGULASE-POSITIVE *STAPHYLOCOCCUS* ASSOCIATED WITH BOVINE MASTITIS IN SOUTHERN RIO GRANDE DO SUL

Lucas Schaefer Batista^{1*}; Helenice Gonzalez de Lima¹; Rita de Cássia dos Santos da Conceição¹; Giselda Maria Pereira²; Maria Gabriela Custódio Kobayashi¹; Luísa Pereira de Barros¹; Maria Eduarda Fortes Gonçalves¹; Beatriz Bagarollo Dauar¹; Patrícia da Silva Fernandes¹; Laís Guedes Cabelo¹; Isabel Luíza Teodoro Oliveira¹; Kelly Guedes¹; Larissa Jordão de Arruda Câmara¹; Patrícia da Silva Nascente³.

¹Veterinary College of Federal University of Pelotas – Pelotas – Rio Grande do Sul state – Brazil;

²Department of Statistics and Mathematics of Institute of Mathematics and Physics of Federal University of Pelotas – Pelotas – Rio Grande do Sul state – Brazil;

³Departamento de Microbiologia and Parasitology of Biology Institute of Federal University of Pelotas – Pelotas – Rio Grande do Sul – Brazil;

Author contributions:

LSB: Conceptualization, Methodology, Investigation, Data curation, Resources, Writing – original draft.

HGL: Conceptualization, Methodology, Investigation, Resources, Writing – review and editing, Supervision.

RCSC: Investigation, Resources, Supervision.

GMP: Data curation, Formal analysis.

MGCK: Investigation.

LPB: Investigation.

MEFG: Investigation.

BBD: Investigation.

PSF: Investigation.

LGC: Investigation.

ILTO: Investigation.

KG: Investigation.

LJAC: Investigation.

PSN: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing – review and editing, Supervision.

*Corresponding author: lbatistasul@gmail.com

Abstract

Antimicrobial resistance is great concern of World Health Organization in the One Health context. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is included on the 2024 priority bacteria multidrug resistant bacteria list. *S. aureus* is the most frequent bacterium found in dairy cows' mastitis. This study aimed to compare the resistance in two groups of coagulase-positive *Staphylococcus*, collected independently in two periods: 2010-2013 and 2024-2025, in the same region, southern Rio Grande do Sul state, Brazil. Isolates from 2010–2013 were obtained using the same methodology applied to collect 2024-2025 isolates, but had been stored in a bacterial bank. They were recovered, biochemically identified as coagulase-positive *Staphylococcus*, and subjected to antibiogram testing using the agar disk diffusion technique. To obtain the 2024-2025 isolates, 20 farms with independent dairy herds were visited, and all milk-producing animals were examined for clinical and subclinical mastitis, using the dark-bottomed cup test and the Californian Mastitis Test (CMT), respectively. Milk samples were collected from positive animals and subjected to milk cultures, obtaining coagulase-positive *Staphylococcus* isolates. In total, 131 isolates were obtained from the 2024-2025 group, and 30 isolates from the 2010-2013 group. All of them were subjected to antibiogram testing against 37 antimicrobials. Greater resistance and lower susceptibility were observed in 2024–2025 compared with 2010–2013. Greater resistance was observed in the 2024-2025 group (9,1%), compared to the 2010-2013 group (6,3%). No significant difference in susceptibility to any antimicrobial was found between the multidrug-resistant isolates of the two groups.

Key-words: Dairy cows; multi-drug resistance; Historical evolution; Antibiogram.

Introduction

Antimicrobial resistance is a major concern for global health [1]. Based on the "One Health" concept, which considers animal, human, and environmental health inseparable, it is necessary to extend this problem to animal health and livestock [2].

In dairy farming, mastitis is the main disease affecting herds [3]. Among the microorganisms that cause mastitis, *Staphylococcus* is frequently reported as the most prevalent [4]. Owing to its virulence factors it is also a cause for great concern, because it forms microabscesses in the tissue, can suppress phagocytes, and hinders the access of antimicrobials [5].

Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is included on World Health Organization's (WHO) list of bacteria of concern for multidrug resistance [6]. Bacteria resistant to three or more antimicrobial classes of antimicrobials are considered multidrug-resistant [1].

In addition to causing significant economic impact [7], mastitis results in extensive antimicrobial use [8]. The management of these animals, if not done correctly, especially with regard to the withdrawal period, can end up leaving residues of antimicrobials in the milk [9], generating a technological and public health problem. The exposure to low doses leads to the selection of resistant microorganisms [10]. Therefore, rational antimicrobial use and reduction of environmental dissemination are essential.

This study aimed to verify if there were changes on susceptible and resistance profile of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates causing mastitis in dairy herds over a decade in herds from the southern region of Rio Grande do Sul State, Brazil. At the same time evaluate and update the current antimicrobial susceptibility profile of those bacteria in the region.

Material and Methods

For the present study, two independent groups of isolates were used: 30 isolates of coagulase-positive *Staphylococcus*, from the bacterial culture collection of the Laboratory for Inspection of Products of Animal Origin at the Federal University of Pelotas, and 131 coagulase-positive *Staphylococcus* isolates obtained from milk samples submitted to culture.

The isolates obtained from bacterial culture collection were originally collected in the southern region of Rio Grande do Sul state, from samples of mastitis milk, from 20 independent herds between the years 2010 and 2013. They were frozen at -18°C in cryotubes. To recover them, they were thawed at room temperature, and 0.1ml of the contents was transferred to test tubes containing 3ml of brain-heart infusion (BHI) broth and incubated for 18 hours at 37°C. After incubation, when observing the increase in turbidity of the test tubes, a 10ml aliquot was seeded in plates containing Baird Parker agar enriched with 1% potassium tellurite and 5% egg yolk emulsion. The plates were incubated for 48h at 37°C. After incubation in selective culture medium, the isolates were transferred to non-selective and non-chromogenic culture medium to perform biochemical confirmation of the species and antibiogram.

Collections were carried out between 2024 and 2025. Twenty farms where dairy cattle farming is practiced were selected. The selection was carried out in a non-probabilistic manner, looking to facilitate access to the farms. Were tried to cover the various purposes of milk production, as indicated by the productive and socioeconomic report of the milk production chain in Rio Grande do Sul 2023 [11] large, medium and small-scale commercial production, production for subsistence, commercial production through family farming and learning farms were visited. The farms were distributed across seven cities in the southern region of Rio Grande do Sul state: Morro Redondo (n=1); Pelotas (n=4); São Lourenço do Sul (n=3); Rio Grande (n=7); Capão do Leão (n=3); Cerrito (n=2). The area covered by visits between 2024 and 2025 is the same as where the isolates were obtained between 2010 and 2013, and the number of properties is also the same. However, the farms are not exactly the same, as many have ever discontinued milk production.

The methodology for obstinances and isolating coagulase-positive *Staphylococcus* followed the methodology proposed by Santos and Fonseca [12]. This was the same methodology used by Dal Vesco et al. [13],

which was used to obtain the first group of isolates. To obtain the isolates, 614 milking cows were examined, detecting clinical mastitis using the dark-bottomed cup test, and subclinical mastitis using the Californian Mastitis Test (CMT). After confirming mastitis, samples were aseptically collected in appropriate tubes, previously sterilized. Those tubes have been taken for milking culture to isolate coagulase-positive *Staphylococcus* colonies.

For milking culture, an aliquot of 10 mcl of the sample was seeded in plates containing blood agar enriched with 5% defibrinated blood. The plates were incubated at 37°C, and readings were taken after 24h and 48h. After growth, macroscopic examination was conducted to check eventual differences between the colonies in terms of color, size, and appearance, to test each type separately. Slides were prepared, and Gram-positive cocci were selected using Gram staining. Subsequently, the catalase test was performed with 10-volume hydrogen peroxide, and isolates with positive results were considered to belong to the genus *Staphylococcus* spp.

Staphylococcus spp. was transferred for tubes with 3ml of BHI broth and incubated at 37°C for 18 hours looking to obtain liquid cultures for the coagulase test. The coagulase test was performed by incubating in an Eppendorf tube 0.3 ml of plasma, adding 0.1 ml of the isolate in BHI broth for 24 hours, and taking a reading after 6 hours of incubation.

All biochemical assays used ATCC 25923 (American Type Culture Collection) of *S. aureus* as a positive control. For the negative control, sterile BHI broth subjected to sterility control was used. After obtaining the coagulase positive *Staphylococcus* identified and isolated, they were transferred to plates containing non-selective, non-chromogenic culture medium for antibiogram testing, following the recommendation of Ribeiro and Stelato [14]. Due to laboratory standardization, the culture medium used was standard plate count agar (PCA), incubated at 37°C for 24h, using surface plating.

For antibiogram testing, both for isolates: from the bacteria bank and for isolates obtained from the samples, the agar disc diffusion technique was used. The cultures were dissolved in saline solution with 0.85% sodium chloride (NaCl). The optical density was adjusted to 0.5 on the McFarland scale using the Viteck Densichek equipment, duly calibrated and verified.

The dissolved bacteria were seeded with sterile swab in plates containing Muller Hinton Agar, and then commercial discs impregnated with the antimicrobials were added. The plates were incubated for 18-24h at 37°C, and the reading was performed after incubation, using a millimeter ruler above a dark background surface.

The following antimicrobials were tested: Penicillin G; Oxacillin; Ampicillin; Amoxicillin associated with Clavulanic Acid; Ampicillin associated with Sulbactam; Piperacillin associated with Trazobactam; Cephalexin; Cephalothin; Cefazolin; Cefuroxime; Cefoxitin; Ceftriaxone; Cefotaxime; Ceftiofur; Cefepime; Imipenem; Meropenem; Ertapenem; Vancomycin; Teicoplanin; Amikacin; Gentamicin; Neomycin; Bacitracin; Erythromycin; Clindamycin; Doxycycline; Tetracycline; Linezolid; Rifampicin; Chloramphenicol; Ciprofloxacin; Enrofloxacin; Levofloxacin; Moxifloxacin; Sulfonamides and; Trimethoprim. In total it was 37.

For the interpretation of the results of susceptibility, the size of the inhibition halos was considered, classifying each isolate as "Sensitive", "Intermediate", or "Resistant", according to Table 1. In the presence of satellite colonies, the bacteria were considered resistant to that active ingredient.

Table 1: Size range (in millimeters) of inhibition halos for classification of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates for each antimicrobial active ingredient

Antimicrobial	Size range Resistant/Intermediate/Sensible	Reference
Penicillin G	$\leq 28/\geq 29$	[15]
Oxacillin	$\leq 10/\geq 13$	[16]
Ampicillin	$\leq 28/\geq 29$	[17]
Amoxicillin + Clavulanic Acid	$\leq 19/\geq 20$	[17]
Ampicillin + Sulbactam	$\leq 11/\geq 15$	[17]
Piperacillin + Tazobactam	$\leq 17/\geq 18$	[17]
Cephalexin	$\leq 14/\geq 18$	[16]
Cephalothin	$\leq 14/\geq 18$	[16]
Cefazolin	$\leq 14/\geq 18$	[16]
Cefuroxime	$\leq 14/\geq 18$	[17]
Cefoxitin	$\leq 21/\geq 22$	[15]
Ceftriaxone	$\leq 13/\geq 21$	[17]
Cefotaxime	$\leq 14/\geq 23$	[17]
Ceftiofur	$\leq 17/\geq 21$	[18]
Cefepime	$\leq 14/\geq 18$	[17]
Imipenem	$\leq 13/\geq 16$	[17]
Meropenem	$\leq 13/\geq 16$	[17]
Ertapenem	$\leq 15/\geq 19$	[17]
Vancomycin	≤ 15	[17]
Teicoplanin	$\leq 10/\geq 14$	[17]
Amikacin	$\leq 14/\geq 17$	[17]
Gentamycin	$\leq 12/\geq 15$	[15]
Neomycin	$\leq 12/\geq 17$	[16]
Bacitracin	≥ 10	[19]
Clindamycin	$\leq 14/\geq 21$	[15]
Erythromycin	$\leq 13/\geq 23$	[15]
Doxycycline	$\leq 12/\geq 16$	[15]
Tetracycline	$\leq 14/\geq 19$	[15]
Linezolid	≥ 21	[20]
Chloramphenicol	$\leq 12/\geq 18$	[15]
Rifampicin	$\leq 16/\geq 20$	[15]
Ciprofloxacin	$\leq 15/\geq 21$	[15]
Enrofloxacin	$\leq 17/\geq 22$	[16]
Moxifloxacin	$\leq 20/\geq 24$	[15]
Levofloxacin	$\leq 15/\geq 19$	[15]
Sulfonamides	$\leq 12/\geq 17$	[15]
Trimethoprim	$\leq 10/\geq 16$	[21]

The results were tabulated in Microsoft Excel 365, where the number of sensitive, resistant, and intermediate isolates was automatically counted, in addition to performing descriptive statistics on the data. The comparison for each active ingredient, between periods, was performed using Fisher's Exact test, by RStudio program, considering a significance level of $p < 0.05$. The comparison between the level of resistance and sensitivity proportions, in general, was made with Z-test, using the Bioestat 5.0 program.

Because it involved animal milk sample collection, this study was submitted to and approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of the Federal University of Pelotas (CEUA/UFPEL). It is registered under number 021682/2024-28. All animal handling was carried out in the presence of a duly qualified Veterinarian. The etiological diagnosis obtained by this study, always were reported to the respective responsible for the animals. After the end of study, all contaminated material was destroyed by autoclave under 125°C for 30 minutes. The isolates obtained was send to isolate bank of Federal University of Pelotas.

Results

Of the 30 isolates recovered from the bacteria bank, obtained between 2010 and 2013 in southern region of Rio Grande do Sul state farms, five proved to be multidrug-resistant, corresponding to 16.67% of the total. Among all isolates, the antimicrobials that showed the lowest susceptibility were Sulfonamides, with only 26.67% of isolates sensitive, Clindamycin, with 80% of isolates sensitive, Penicillin, Erythromycin, Chloramphenicol, and Amikacin, with 83.33% of isolates sensitive. The susceptibility results for each antimicrobial of all isolates are shown in Table 2.

Table 2: Susceptibility to antimicrobials of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from 2010 to 2013

Antimicrobial	% of Susceptible bacteria
Sulfonamides	26.667
Clindamycin	80.000
Penicillin G	83.333
Erythromycin	83.333
Amikacin	83.333
Chloramphenicol	83.333
Oxacillin	86.667
Neomycin	86.667
Rifampicin	86.667
Enrofloxacin	86.667
Cephalexin	89.655
Cefuroxime	90.000
Trimethoprim	90.000
Cephalothin	93.103
Ampicillin	93.333
Cefoxitina	93.333
Cefotaxima	93.333
Cefepime	93.333
Ertapenem	93.333
Tetracycline	93.333
Ciprofloxacin	93.333
Cephazolin	96.552
Ceftriaxone	96.667
Ceftiofur	96.667
Meropenem	96.667
Vancomycin	96.667
Gentamycin	96.667
Levofloxacin	96.667
Amoxicillin with Clavulanic Acid	100.000
Ampicillin with Sulbactam	100.000
Piperacillin with Trazobactam	100.000
Imipenem	100.000
Teicoplanin	100.000
Bacitracin	100.000
Doxycycline	100.000
Linezolid	100.000
Moxifloxacin	100.000

The resistance of the isolates to antimicrobials is shown in Table 3. The sum of the values in Table 3 and Table 2 for each antimicrobial will not necessarily be 100%, as there were several results showing intermediate resistance.

Table 3: Resistance to antimicrobials of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates in mastitis in the southern region of Rio Grande do Sul between 2010 and 2013

Antimicrobial	% of Resistant bacteria
Sulfonamides	53.33
Penicillin	16.67
Amikacin	16.67
Clindamycin	13.33
Cephalexin	10.34
Erythromycin	10.00
Neomycin	10.00
Rifampicin	10.00
Enrofloxacin	10.00
Cephalothin	6.90
Oxacillin	6.67
Ampicillin	6.67
Cefuroxime	6.67
Cefoxitin	6.67
Cefepime	6.67
Ertapenem	6.67
Chloramphenicol	6.67
Ciprofloxacin	6.67
Ceftriaxone	3.33
Cefotaxime	3.33
Ceftiofur	3.33
Meropenem	3.33
Vancomycin	3.33
Tetracycline	3.33
Levofloxacin	3.33
Trimethoprim	3.33
Amoxicillin with Clavulanic Acid	0.00
Ampicillin with Sulbactam	0.00
Piperacillin com Tazobactam	0.00
Cephazolin	0.00
Imipenem	0.00
Teicoplanin	0.00
Gentamycin	0.00
Bacitracin	0.00
Doxycycline	0.00
Linezolid	0.00
Moxifloxacin	0.00

In the isolates obtained between 2024 and 2025, nine were multidrug-resistant. During this period, the only antimicrobials with 100% susceptibility were Imipenem and Meropenem, as shown in Table 4.

Table 4: Susceptibility to antimicrobials of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates in 2024-2025

Antimicrobial	% of Susceptible bactéria
Sulfonamides	26.67
Trimethoprim	74.81
Penicillin	83.21
Erythromycin	87.02
Clindamycin	87.79
Ampicillin	92.31
Neomycin	93.13
Enrofloxacin	93.70
Ceftriaxone	93.85
Oxacillin	93.89
Cefotaxime	94.62
Rifampicin	94.66
Bacitracin	95.42
Tetracycline	95.42
Doxycycline	96.15
Teicoplanin	96.90
Amikacin	96.90
Cephazolin	96.92
Vancomycin	96.92
Cephalexin	96.95
Cephalothin	97.67
Cefuroxime	97.69
Cefepime	97.69
Amoxicillin with Clavulanic Acid	97.71
Cefoxitin	97.71
Ertapenem	97.71
Gentamycin	97.71
Chloramphenicol	98.46
Piperacillin with Trazobactan	98.47
Ceftiofur	98.47
Ciprofloxacin	98.47
Moxifloxacin	98.47
Levofloxacin	99.22
Ampicillin with Sulbactam	99.24
Linezolid	99.24
Imipenem	100.00
Meropenem	100.00

The antimicrobial resistance found in the analyzed samples is shown in Table 5. The sum of sensitivity and resistance will not necessarily be 100%, as several isolates presented intermediate results.

Table 5: Antimicrobial resistance of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates in the southern region of Rio Grande do Sul between 2024 and 2025

Antimicrobial	% of Resistant bactéria
Sulfonamides	64.76
Trimethoprim	18.00
Penicillin G	16.79
Clindamycin	7.63
Ampicillin	6.92
Rifampicin	5.34
Oxacilina	4.58
Bacitracin	3.82
Vancomycin	3.08
Cephalothin	2.33
Cephazolin	2.31
Cephalexin	2.29
Cefoxitin	2.29
Ertapenem	2.29
Tetracycline	2.29
Cefuroxime	1.54
Ceftriaxone	1.54
Piperacillin with Trazobactan	1.53
Ceftiofur	1.53
Erythromycin	1.53
Neomycin	1.53
Enrofloxacin	0.79
Teicoplanin	0.78
Amikacin	0.78
Cefotaxime	0.77
Doxycycline	0.77
Gentamycin	0.76
Linezolid	0.76
Ciprofloxacin	0.76
Amoxicillin with Clavulanic Acid	0.00
Ampicillin with Sulbactam	0.00
Cefepime	0.00
Imipenem	0.00
Meropenem	0.00
Chloramphenicol	0.00
Moxifloxacin	0.00
Levofloxacin	0.00

Comparing the two groups of bacteria, 2010-2013 and 2024-2025, was observed an increase in the proportion of resistant isolates and a reduction in the proportion of susceptible isolates. In the isolates from the period 2010-2013, the results showed 91.4% susceptibility to antimicrobials, 6.3% resistance, and 2.3% intermediate values. In the isolates collected between 2024-2025, the results showed 89.1% susceptibility, 9.1% resistance, and 1.9% intermediate results, as shown in Figure 1.

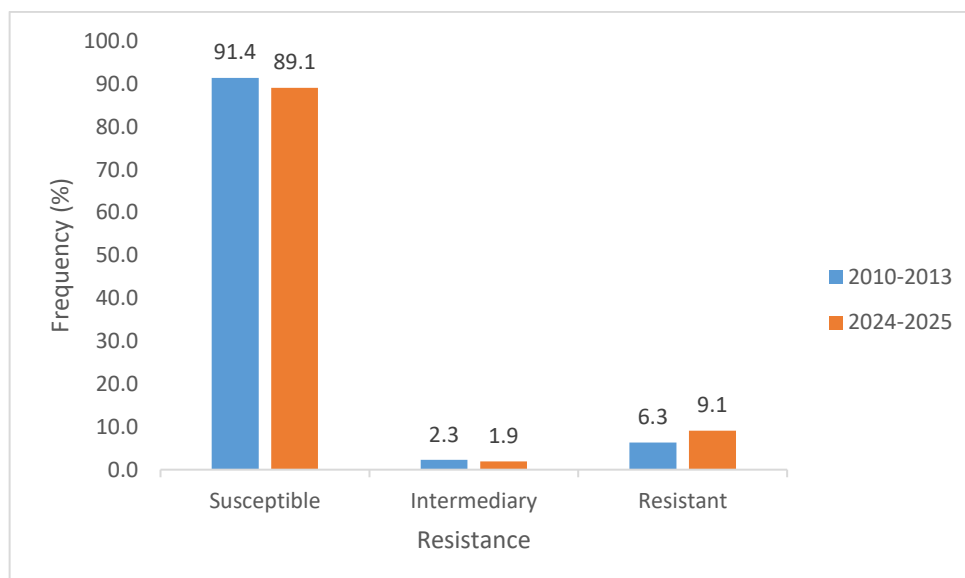


Figure 1: Frequency (in percentage) of results for susceptibility of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from the southern region of Rio Grande do Sul state between the periods 2010-2013 and 2024-2025

The difference in the period was statistically significant, for the reduction in the frequency of sensitive results ($p=0.0107$) and very significant ($p=0.0017$) for the increase in resistance. There was no statistically significant difference for the frequency of intermediate results ($p=0.2023$).

When evaluating the multidrug-resistant isolates of coagulase-positive *Staphylococcus*, comparing the five found in group 2010-2013 and the nine found in the 2024-2025 group, there was no statistically significant increase in resistance to any specific antimicrobial, as shown in Table 6. Thus, in this study it was not possible to verify a difference in the specific efficacy of any active ingredient studied between the periods.

Table 6: Comparison of antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* from the southern region of Rio Grande do Sul between 2010-2013 and 2024-2025

Antimicrobial	2010-2013				2024-2025				p-value
	Susceptible	Intermediate	Resistant	Total	Susceptible	Intermediate	Resistant	Total	
Penicillin G	1	0	4	5	6	0	3	9	0.2657
Oxacillin	2	1	2	5	5	0	4	9	0.528
Ampicillin	4	0	1	5	6	0	3	9	1
Amoxicillin + Clavulanic Acid	5	0	0	5	7	1	1	9	1
Ampicillin + Sulbactam	5	0	0	5	9	0	0	9	1
Piperacillin + Tazobactam	5	0	0	5	7	0	2	9	0.5055
Cephalexin	2	0	3	5	7	0	2	9	0.2657
Cephalothin	3	0	2	5	7	0	2	9	0.5804
Cefazolin	4	1	0	5	6	1	2	9	0.7602
Cefuroxime	2	1	2	5	6	1	2	9	0.7762
Cefoxitin	3	0	2	5	7	0	2	9	0.5804
Ceftriaxone	4	0	1	5	7	1	1	9	1
Cefotaxime	3	1	1	5	7	1	1	9	1
Ceftiofur	4	0	1	5	7	0	2	9	1
Cefepime	3	0	2	5	7	2	0	9	0.2148
Imipenem	5	0	0	5	9	0	0	9	1
Meropenem	4	0	1	5	9	0	0	9	0.3571
Ertapenem	3	0	2	5	6	0	3	9	1
Vancomycin	4	0	1	5	8	0	1	9	1
Teicoplanin	5	0	0	5	8	0	1	9	1
Amikacin	2	0	3	5	7	0	1	8	0.2168
Gentamycin	4	1	0	5	8	0	1	9	0.6044
Neomycin	2	0	3	5	8	0	1	9	0.09491
Bacitracin	5	0	0	5	5	0	3	8	1
Clindamycin	2	0	3	5	6	2	1	9	0.2308
Erythromycin	2	0	3	5	4	0	5	9	1
Doxycycline	5	0	0	5	6	2	1	9	0.6703
Tetracycline	3	1	1	5	6	1	2	9	1
Linezolid	5	0	0	5	8	0	1	9	1
Chloramphenicol	4	0	1	5	7	1	0	8	0.641
Rifampicin	4	0	1	5	5	0	4	9	0.5804
Ciprofloxacin	3	0	2	5	7	1	1	9	0.6853
Enrofloxacin	4	0	1	5	5	3	1	9	0.5594
Moxifloxacin	5	0	0	5	8	1	0	9	1
Levofloxacin	4	0	1	5	9	0	0	9	0.3571
Sulfonamides	1	0	4	5	1	1	4	6	1
Trimethoprim	5	0	0	5	6	1	2	9	0.6703

Between 2010 and 2013, resistance in multidrug-resistant isolates occurred against a range of 3 to 18 antimicrobials. Table 7 shows the discrimination of susceptibility and resistance of multidrug-resistant isolates from the period 2010-2013.

Table 7: Discrimination of susceptibility and resistance of multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from the southern region of Rio Grande do Sul in the period 2010-2013

Antimicrobials	Sta2	Sta20	Sta96	Sta110	Sta125
Penicillin G	R	R	R	R	S
Oxacillin	R	R	S	S	I
Ampicillin	S	S	S	R	S
Amoxicillin + Clavulanic Acid	S	S	S	S	S
Ampicillin + Sulbactam	S	S	S	S	S
Piperacillin + Trazobactam	S	S	S	S	S
Cephalexin	R	R	R	S	S
Cephalothin	R	R	S	S	S
Cefazolin	S	I	S	S	S
Cefuroxime	I	R	R	S	S
Cefoxitin	R	R	S	S	S
Ceftriaxone	S	R	S	S	S
Cefotaxime	S	R	I	S	S
Ceftiofur	S	R	S	S	S
Cefepime	R	R	S	S	S
Imipenem	S	S	S	S	S
Meropenem	S	R	S	S	S
Ertapenem	R	R	S	S	S
Vancomycin	S	S	S	R	S
Teicoplanin	S	S	S	S	S
Amikacin	R	R	S	R	S
Gentamycin	S	I	S	S	S
Neomycin	R	R	R	S	S
Bacitracin	S	S	S	S	S
Clindamycin	R	R	R	S	S
Erythromycin	R	R	R	S	S
Doxycycline	S	S	S	S	S
Tetracycline	S	I	R	S	S
Linezolid	S	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	R	S	S	S
Rifampicin	S	S	S	S	R
Ciprofloxacin	S	S	R	S	R
Enrofloxacin	S	S	S	R	S
Moxifloxacin	S	S	S	S	S
Levofloxacin	S	S	S	R	S
Sulfonamides	R	R	S	R	R
Trimethoprim	S	S	S	S	S
Total of Resistant	12	18	8	7	3
Total of Intermediates	1	3	1	0	1
Total of Susceptible	24	16	28	30	33

S: Susceptible; I: Intermediate; R: Resistant.

In the period 2024-2025, it was found that multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates were resistant to between three and 16 antimicrobials. However, the number of intermediate results reached ten antimicrobials in the same isolate (301), which already had resistance to 16 other antimicrobials, for a total of 26 potentially ineffective antimicrobials at the usual therapeutic dose. Table 8 shows the discrimination of susceptibility and resistance of multidrug-resistant isolates from the period 2024-2025.

Table 8: Discrimination of susceptibility of multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from the southern region of Rio Grande do Sul in the period 2024-2025

Antimicrobials		SCP49	SCP69	SCP93	SCP264	SCP301	SCP311	SCP435	SCP479	SCP607
Penicillin G		R	S	S	S	R	S	S	R	S
Oxacillin		S	S	S	S	R	R	R	R	S
Ampicillin		R	S	S	S	R	S	S	R	S
Amoxicillin	+	S	R	S	S	I	S	S	S	S
Clavulanic Acid										
Ampicillin	+	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sulbactam										
Piperacillin	+	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Trazobactam										
Cephalexin		S	S	S	S	R	S	S	R	S
Cephalexin		S	S	S	S	R	S	S	R	S
Cefazolin		S	S	S	S	R	S	S	I	S
Cefuroxime		R	S	S	S	I	S	S	R	S
Cefoxitin		S	S	S	S	R	S	S	R	S
Ceftriaxone		S	S	S	S	I	S	S	R	S
Cefotaxime		S	S	S	S	I	S	S	R	S
Ceftiofur		S	S	S	S	R	S	S	R	S
Cefepime		S	S	S	S	I	S	S	I	S
Imipenem		S	S	S	S	S	S	S	S	S
Meropenem		S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ertapenem		S	S	S	S	R	S	S	R	S
Vancomycin		S	S	S	S	R	S	S	S	S
Teicoplanin		S	S	S	S	R	S	S	S	S
Amikacin		S	S	R	S	S	S	S	0	S
Gentamycin		S	S	S	S	S	S	S	R	S
Neomycin		S	S	S	S	S	S	S	R	S
Bacitracin		R	S	R	S	0	S	S	R	S
Clindamycin		S	S	S	S	I	I	S	R	S
Erythromycin		R	R	S	S	R	R	S	R	S
Doxycycline		S	S	S	R	S	I	S	I	S
Tetracycline		S	S	S	S	I	R	S	R	S
Linezolid		S	S	S	S	R	S	S	S	S
Chloramphenicol		S	S	I	S	S	S	S	0	S
Rifampicin		S	S	R	R	R	S	R	S	R
Ciprofloxacin		S	S	S	S	I	R	S	S	S
Enrofloxacin		S	S	S	R	I	I	S	R	S
Moxifloxacin		S	S	S	S	I	S	S	S	S
Levofloxacin		S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sulfonamides		I	R	S	0	0	0	R	R	R
Trimethoprim		S	S	S	R	R	I	S	S	S
Total of Resistant		5	3	3	4	16	4	3	18	3
Total of Intermediates		1	0	1	0	10	4	0	4	0
Total of Susceptible		31	34	33	32	9	29	34	13	34

S: Susceptible; I: Intermediate; R: Resistant.

Discussion

This study included a total of 37 antimicrobials, covering different classes. It's allows for a broad understanding of the susceptibility of isolates from the southern region of Rio Grande do Sul. Regionalized studies of *S. aureus* susceptibility to antimicrobials are very important due to the diversity of strains around different regions, as shown by Silva et al. [22], especially in southern Brazil, which, according to these authors, it is where the strains found differed from the rest of the country. In the same vein, the meta-analysis of Pissetti et al. [23] showed large variations in the resistance levels of different *S. aureus* strains to different beta-lactams.

In this study, most of the isolates were sensitive to most of the antimicrobials tested, however, multidrug-resistant isolates were found, with one isolate being susceptible to only nine antimicrobials. It should also be noted that when comparing the two groups, an increase in antimicrobial resistance was observed.

The work of Kowalski et al. [24], conducted with strains stored in Rio Grande do Sul state, Brazil, compared the evolution over 20 years, and showed that there are oscillations in resistance for each antimicrobial. In the present study, it was not possible to verify statistically significant oscillations for any antimicrobial, however, in the 2010-2013 group there were no isolates resistant, or with intermediate sensitivity to Amoxicillin with Clavulanic Acid, Ampicillin with Sulbactam, Piperacillin with Tazobactam, Imipenem, Teicoplanin, Bacitracin, Doxycycline, Linezolid and Moxifloxacin, while in the 2024-2025 group only Imipenem and Meropenem showed 100% susceptibility. This is consistent with the statistically significant result demonstrating that there was an increase in overall resistance and a reduction in sensitivity.

The antimicrobial with the highest resistance in both groups were the Sulfonamides. A similar result was found by Abdi et al. [25]. In the 2024-2025 group, the second highest resistance was to Trimethoprim. In this sense, the current recommendation for routine assays for clinical purposes is to directly test the association of Sulfamethoxazole with Trimethoprim, and just when bacteria was isolated in the urinary tract [15].

It was found that Penicillin G showed resistance rates above 15% among the isolates, and susceptibility rates lower than 85% in both periods. In the work of Bitencourt et al. [26], developed in the state of Espírito Santo, Penicillin showed the highest resistance rates. At the same time, in several other circumstances in Veterinary Medicine, Penicillin G is also recommended as the first choice [27].

An important limitation of this study is due to the agar disk-diffusion methodology. Some antimicrobials should preferably have their susceptibility tested by broth microdilution, to obtain the minimum inhibitory concentration (MIC), as is the case with Vancomycin and Bacitracin [15]. Despite the known technical limitations, this study tested sensitivity to Bacitracin, since there are commercial products intended for the treatment of mastitis that use the active ingredient. One difficulty encountered by this study was establishing the limits for the size of the halos to be considered sensitive or resistant. Because it is preferably tested by obtaining the MIC, the breakpoints are not established in standardized tables. Therefore, the only found study [19] was used as a basis, which demonstrated a breakpoint of 10 mm with 100% sensitivity and 94.6% specificity.

The results of this study corroborate with WHO's concerns about multidrug resistance, since an increase in bacterial resistance and a reduction in susceptibility to antimicrobials of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates in the southern region of Rio Grande do Sul state, Brazil were observed. At the same time, further studies are needed to measure the impact of these findings in the context of One Health, as well as to identify the factors that have led to this increase in the region studied.

Conclusions

The results suggest an increase in the overall antimicrobial resistance of coagulase-positive *Staphylococcus* isolated from dairy cattle mastitis to antimicrobials in the southern region of Rio Grande do Sul State, Brazil. However, this study did not identify any difference in susceptibility to specific antimicrobials between the 2010-2013 and 2024-2025 isolate groups.

References

- [1] Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à saúde: módulo 10 – detecção dos principais mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos pelo laboratório de microbiologia clínica*. Brasília; 2020. Accessed Jan 14th, 2026. Available at https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10_manual-de-microbiologia.pdf.
- [2] McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial resistance: a One Health perspective. **Microbiol Spectr**. 2018; 6 (2): ARBA-0009-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>.
- [3] Moreira MAS, Costa MM, Schwarz DGG, Braga IFE, Carvalho IA, Magna CL, et al. Mastites em rebanhos leiteiros. In: *Cadeias leiteiras no Brasil: produção, sanidade e processamento*. Viçosa: Editora UFV; 2024. p. 134–153.
- [4] Acosta AC, Silva LBG, Medeiros ES, Pinheiro-Júnior JW, Mota RA. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesq Vet Bras**. 2016; 36 (7): 565–573. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000700001>.
- [5] Ribeiro MG, Lagoni H, Domingues PF, Pantoja JCF. Mastite em animais domésticos. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC, editors. *Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*. Rio de Janeiro: Roca; 2020. p. 1154–1205.
- [6] World Health Organization. *WHO bacterial priority pathogens list: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*. Geneva; 2024. Accessed Jan 7th, 2026. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>
- [7] Benítez G, Cruz I, Larriestra A. Total cost of bovine mastitis and economic impact of improvement of udder health plans in commercial dairy herds in Uruguay. **Braz J Vet Res Anim Sci**. 2025; 62: e227117. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2025.227117>.
- [8] Virto M, Santamarina-García G, Amores G, Hernández I. Antibiotics in dairy production: where is the problem? **Dairy**. 2022; 3 (3): 541–564. <https://doi.org/10.3390/dairy3030039>.
- [9] Cerqueira MMOP, Souza FN, Cunha AF, Picinin LCA, Leite MO, Penna CFAM, et al. Detection of antimicrobial and anthelmintic residues in bulk tank milk from four different mesoregions of Minas Gerais State, Brazil. **Arq Bras Med Vet Zootec**. 2014; 66 (2): 621–625. <https://doi.org/10.1590/1678-41627274>.
- [10] Gullberg E, Cao S, Berg OG, Ilbäck C, Sandegren L, Hughes D, Andersson DI. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. **PLoS Pathog**. 2011; 7 (7): e1002158. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002158>.
- [11] Rio Grande do Sul. *Relatório socioeconômico da cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul: 2023*. Porto Alegre: EMATER/ASCAR; 2025. Accessed Jan 7, 2026. Available from: <https://www.sistemafaep.org.br/wp-content/uploads/2025/09/RS-Relatorio-cadeia-produtiva-do-leite-2023-1.pdf>
- [12] Santos MV, Fonseca LFL. *Controle de mastite e qualidade do leite: desafios e soluções*. Pirassununga; 2019.
- [13] Dal Vesco J, Siebel J, Suzin G, Cereser ND, Gonzalez H. Monitoramento dos agentes causadores de mastite e a susceptibilidade aos antimicrobianos. **Expressa Extensão**. 2017; 22 (1): 34–50 <https://doi.org/10.15210/ee.v22i1.7886>.
- [14] Ribeiro MC, Stelato MM. *Microbiologia prática: aplicações de aprendizagem de microbiologia – bactérias, fungos e vírus*. 2nd ed. São Paulo: Atheneu; 2011.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. CLSI supplement M100. 34th ed. Wayne (PA): CLSI; 2024.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals*. 3rd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. CLSI supplement M100. 15th ed. Wayne (PA): CLSI; 2005.
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing for bacteria isolated from animals*. CLSI supplement VET01S. 6th ed. Wayne (PA): CLSI; 2023.
- [19] Baker JS, Hackett MF, Simard DJ. Variations in bacitracin susceptibility observed in *Staphylococcus* and *Micrococcus* species. **J Clin Microbiol**. 1986; 23 (5): 963–964. <https://doi.org/10.1128/jcm.23.5.963-964.1986>.
- [20] Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). *Tabelas brasileiras para interpretação de testes de sensibilidade aos antimicrobianos*. Versão 2024. São Paulo: BrCAST; 2024.
- [21] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. CLSI supplement M100. 33rd ed. Wayne (PA): CLSI; 2023.
- [22] Silva JR, Ribeiro JB, Silva JFM, Dias JA, Ribeiro GR, Gonçalves MS, et al. Molecular characterization and virulence factor profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazilian herds. **Semina Cienc Agrar**. 2024; 45 (3): 919–944. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2024v45n3p919>.
- [23] Pissetti C, Silva APSP, Neto WS, Costa EF. *Staphylococcus aureus* resistant to β -lactam antibiotics in mastitis dairy herds: a meta-analysis. **Braz J Anim Environ Res**. 2021; 4 (1): 772–788. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n1-064>.
- [24] Kowalski AP, Maboni G, Espindola JP, Foletto A, Bandeira Junior G, Pötter L, et al. Temporal profile of antimicrobial resistance exhibited by strains of *Staphylococcus* spp. isolated from cases of bovine mastitis for 20 years (1992–2011). **Cienc Rural**. 2015; 45 (6): 1035–1041. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140928>.
- [25] Abdi RD, Gillespie BE, Vaughn J, Merrill C, Headrick SI, Ensermu DB, et al. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows and genetic diversity of resistant isolates. **Foodborne Pathog Dis**. 2018; 15 (7): 449–458. <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2362>.
- [26] Bitencourt LL, Leite MCT, Cazaroti EPF, Botelho FN, Giuberti KC, Silva VBPD. Identificação e Sensibilidade Antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas com mastite. **Rev Ifes Cienc**. 2018; 4 (1): 133–142. <https://doi.org/10.36524/ric.v4i1.333>
- [27] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Rabelo RC, coordinator. *Guia de uso racional de antimicrobianos para cães e gatos*. Brasília: MAPA; 2022. Accessed Jan 14, 2026. Available from: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/publicacoes/livroantimicrobianosv22.pdf>

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

3.3 Artigo 3

**ANIMALS AND HUMANS POSITIVE COAGULASE *STAPHYLOCOCCUS*:
COMPARATION OF SUSCEPTIBILITY PROFILE OF MULTIDRUG-RESISTANT
ISOLATES FROM SOUTHERN ZONE OF RIO GRANDE DO SUL STATE - BRAZIL**

**Lucas Schaefer Batista, Marisa Castro Jara, Giselda Maria Pereira, Helenice
Gonzalez de Lima e Patrícia da Silva Nascente.**

Será submetido à revista Antibiotics – Qualis A1

Article

Animals and humans positive coagulase *Staphylococcus*: comparison of susceptibility profile of multi-drug resistant isolates from southern zone of Rio Grande do Sul state - Brazil

Lucas Schaefer Batista^{1*}, Marisa Castro Jara², Giselda Maria Pereira³, Helenice Gonzalez de Lima¹, Patrícia da Silva Nascente²

¹ Veterinary College of Federal University of Pelotas;

² Biology Institute of Federal University of Pelotas;

³ Department of Mathematics and Statistics of Federal University of Pelotas;

* Correspondence: lbatistasul@gmail.com; Tel.: +55 53 99909-7213

Abstract

Multidrug-resistant microorganisms are a global public health concern. Coagulase-positive *Staphylococcus*, whose main representative is *Staphylococcus aureus*, is the main pathogen associated with mastitis in dairy cattle. At the same time, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is on the World Health Organization's (WHO) list of bacteria of concern for multidrug resistance. Livestock production often is cited as a space for the selection and dissemination of antimicrobial-resistant bacteria to humans. Therefore, this study aimed to verify the susceptibility and resistance profile of multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolated from humans and dairy cows in the southern region of Rio Grande do Sul state, Brazil, to verify the similarity between the profiles, and search statistical associations between bacterial resistance and the origin of the isolates. Two groups of multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates were used: the first, from humans, donated by hospitals in Pelotas city, and the second obtained from milk samples of dairy cows with mastitis. An antibiogram was performed using the agar disk diffusion technique for 37 different antimicrobials. It was found that 6.87% of the coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from cows were multidrug-resistant. Multidrug-resistant isolates from humans were resistant to an average of 22.5 antimicrobials, with a standard deviation of 8.76, while the isolates from animals were resistant to an average of 4 antimicrobials, with a standard deviation of 9.64. There was a statistically significant association between 12 active ingredients and the origin of isolates from humans. None of the 37 active ingredients showed 100% of sensitivity among all isolates. In conclusion, it was determined that there is a transmission route from humans to animals for bacterial resistance, which still needs to be better elucidated, and its impacts better assessed. The adoption of biosecurity measures on dairy farms is suggested to mitigate the entry and spread of these multidrug-resistant microorganisms.

Keywords: Dairy cows; Antibiotics; Mastitis; Bacteria transmission;

1. Introduction

Currently, one of the major concerns from a public health standpoint is bacterial resistance to antimicrobials [1]. Recently, the World Health Organization (WHO) published a list including several pathogens that is a concern for multidrug resistance [2]. Bacteria resistant to three different classes of antimicrobials are considered multidrug-resistant [1].

Among the bacteria listed by the WHO is *Staphylococcus aureus*, if it is resistant to methicillin. *S. aureus* is one of the bacteria most associated with bovine mastitis [3]. At the same time, *S. aureus* is frequently associated with skin and soft tissue infections [4] and can even cause respiratory tract infections in humans, although this is rare [5], and its toxins are associated with outbreaks of food poisoning [6].

S. aureus is the main representant of the coagulase-positive *Staphylococcus* group. They has coagulase enzyme, able to convert plasma fibrinogen in fibrin. Biologically, it is a commensal of the skin and mucous membranes of humans and warm-blooded animals [7].

Mastitis is the main disease affecting dairy herds [8], leading to high consumption of antimicrobials [9] and a lot of production losses [10]. In general, *S. aureus* causes contagious mastitis, whose transmission of the etiological agent occurs between animals, by the milking system or the milker's hands [11].

The work of Bandeira et al. [12] demonstrated that *S. aureus* occurs in mastitis in the southern region of Rio Grande do Sul state, Brazil. The work of Jara et al. [13] demonstrated the occurrence of multidrug-resistant *S. aureus* in human hospitals in the same region.

Based on the One Health concept, which considers human, animal, and environmental health as inseparable [14], many concerns are raised about the use of antimicrobials in livestock, which could select multidrug-resistant bacteria to humans. The incorrect use of antimicrobials, exposing bacteria to sub-doses, is known to select for resistant germs [15]. In this sense, is concern about the reverse flow, also colonization with multidrug-resistant microorganisms in humans could lead to colonization and infections by superbacterias in animals.

Therefore, it is necessary to understand if there is a similarity between multidrug-resistant isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* circulating between people and animals. This study aims to verify if there is a similarity in the resistance profile between human and animal isolates, as well as to describe if there is a correlation between resistance to antimicrobials and the origin of the isolate, what could suggest the flow of colonization.

2. Results

The seven isolates from the first group of coagulase-positive *Staphylococcus*, of human origin, despite having already been received as known to be multidrug-resistant, had their antibiogram repeated. The results of the antibiograms for each active ingredient are shown in Table 1.

Table 1: Discrimination of the results of the antibiograms of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from humans

Antimicrobials	Sta3	Sta5	Sta7	Sta8	Sta 9	Sta12	Sta 15
Penicillin G	R	R	R	R	R	R	R
Oxacillin	R	S	R	R	R	R	R
Ampicillin	R	R	R	R	S	S	R
Amoxicillin + Clavulanic Acid	R	S	S	R	S	S	R
Ampicillin + Sulbactam	R	S	R	S	S	S	R
Piperacillin + Trazobactam	R	S	S	S	S	S	R
Cephalexin	R	S	S	R	S	R	R
Cephalothin	R	S	S	R	R	R	R
Cefazolin	R	S	S	R	I	R	R
Cefuroxime	R	S	I	R	I	R	R
Cefoxitin	R	S	R	R	R	R	R
Ceftriaxone	R	S	I	R	S	R	R
Cefotaxime	R	S	S	R	S	R	R
Ceftiofur	R	S	S	R	S	R	R
Cefepime	R	S	S	R	S	R	R
Imipenem	R	S	R	S	S	S	R
Meropenem	R	S	S	R	S	S	R
Ertapenem	R	S	S	R	R	R	R
Vancomycin	S	S	S	R	S	S	S
Teicoplanin	S	S	S	S	S	S	S
Amikacin	I	S	S	R	R	R	R
Gentamycin	S	S	S	R	I	R	R
Neomycin	R	I	S	S	R	R	R
Bacitracin	R	S	S	S	S	S	R
Clindamycin	R	S	S	R	R	R	R
Erythromycin	R	R	R	R	R	R	R
Doxycycline	S	S	S	S	S	I	I
Tetracycline	S	S	S	R	R	R	R
Linezolid	S	S	S	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	S	S	S	S	R	S
Rifampicin	R	S	S	S	I	R	R
Ciprofloxacin	R	S	S	R	S	R	R
Enrofloxacin	R	S	S	R	I	R	R
Moxifloxacin	I	S	S	I	S	I	R
Levofloxacin	R	S	S	S	I	I	R
Sulfonamides	R	I	R	S	R	R	R
Trimethoprim	S	S	R	S	S	S	I
Total of Resistant	27	3	9	22	11	23	31
Total of Intermediates	2	2	2	1	6	3	2
Total of Susceptible	8	32	26	13	20	11	4

S: Susceptible; I: Intermediate; R: Resistant.

Upon observed the results of the antibiograms, it was found that the human-origin Sta5 isolate was resistant to three active ingredients, Penicillin G, Ampicillin, and Erythromycin, and had an intermediate result for Sulfonamides and Neomycin. The criteria of the National Health Surveillance Agency of Brazil (ANVISA), to be considered multidrug-resistant is necessary resistance to three classes of antimicrobials [1], and Penicillin G and Ampicillin are from the same class [16]. Based on it, this isolate cannot be considered multidrug-resistant. The divergence between the results of this study and the hospital that provided it, as multidrug-resistant, was about Clindamycin. The inhibition halo verified in this study was 33mm, which, according to the Clinical Laboratory Standards Institute, 2024 [17] criteria used to perform the classification Clindamycin in this study, is considered susceptible.

Most of the multidrug-resistant isolates of human origin were resistant to a greater number of antimicrobials active ingredients than the number of antimicrobial active ingredients to which they were susceptible (four of the six bacterial isolates). However, the proportion of these bacteria relative to the total number of *S. aureus* strains circulating among humans in the study area is unknown. The proportion of human isolates from this study that are resistant and sensitive to each antimicrobial is shown in Table 2.

It was found that among the multidrug-resistant isolates of human origin, only Teicoplanin and Linezolid had 100% sensitivity among the isolates tested. The sum of resistance and susceptibility is not necessarily equal to 100%, as there were several intermediate results.

The human isolates were resistant, on average, to 22.5 antimicrobials, with a standard deviation of 8.76. The average sensitivity was to 12 antimicrobials, with a standard deviation of 8.06. The most resistant isolate was Sta15, resistant to 31 antimicrobials and sensitive to only 4.

Multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from animals represent 6.87% of all coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from animals subjected to antibiograms. The discrimination of the susceptibility profile of cow's multidrug-resistant isolates is shown in Table 3.

Table 2: Susceptibility of multidrug-resistant isolates of positive coagulase *Staphylococcus* from humans

Antimicrobials	Number of resistant isolates	Proportion (per cent) of resistant isolates	Number of susceptible isolates	Proportion (per cent) of susceptible isolates
Penicillin G	6	100.00%	0	0.00%
Oxacillin	6	100.00%	0	0.00%
Ampicillin	4	66.67%	2	33.33%
Amoxicillin + Clavulanic Acid	3	50.00%	3	50.00%
Ampicillin + Sulbactam	3	50.00%	3	50.00%
Piperacillin + Tazobactam	2	33.33%	4	66.67%
Cephalexin	4	66.67%	2	33.33%
Cephalothin	5	83.33%	1	16.67%
Cefazolin	4	66.67%	1	16.67%
Cefuroxime	4	66.67%	0	0.00%
Cefoxitin	6	100.00%	0	0.00%
Ceftriaxone	4	66.67%	1	16.67%
Cefotaxime	4	66.67%	2	33.33%
Ceftiofur	4	66.67%	2	33.33%
Cefepime	4	66.67%	2	33.33%
Imipenem	3	50.00%	3	50.00%
Meropenem	3	50.00%	3	50.00%
Ertapenem	5	83.33%	1	16.67%
Vancomycin	1	16.67%	5	83.33%
Teicoplanin	0	0.00%	6	100.00%
Amikacin	4	66.67%	1	16.67%
Gentamycin	3	50.00%	2	33.33%
Neomycin	4	66.67%	2	33.33%
Bacitracin	0	0.00%	5	83.33%
Clindamycin	6	100.00%	0	0.00%
Erythromycin	5	83.33%	1	16.67%
Doxycycline	0	0.00%	4	66.67%
Tetracycline	4	66.67%	2	33.33%
Linezolid	0	0.00%	6	100.00%
Chloramphenicol	1	16.67%	5	83.33%
Rifampicin	3	50.00%	2	33.33%
Ciprofloxacin	4	66.67%	2	33.33%
Enrofloxacin	4	66.67%	1	16.67%
Moxifloxacin	1	16.67%	2	33.33%
Levofloxacin	2	33.33%	2	33.33%
Sulfonamides	5	83.33%	1	16.67%
Trimethoprim	1	16.67%	4	66.67%
Avarage	4	66,67%	2	33.33%
Standard Desviation	1.73	28.75%	1.65	27.51%

Table 3: Discrimination of antibiograms results in cow's positive coagulase *Staphylococcus* multidrug-resistant isolates

Antimicrobials	SCP49	SCP69	SCP93	SCP264	SCP301	SCP311	SCP435	SCP479	SCP607
Penicillin G	R	S	S	S	R	S	S	R	S
Oxacillin	S	S	S	S	R	R	R	R	S
Ampicillin	R	S	S	S	R	S	S	R	S
Amoxicillin + Clavulanic Acid	S	R	S	S	I	S	S	S	S
Ampicillin + Sulbactam	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Piperacillin + Tazobactam	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Cephalexin	S	S	S	S	R	S	S	R	S
Cephalothin	S	S	S	S	R	S	S	R	S
Cefazolin	S	S	S	S	R	S	S	I	S
Cefuroxime	R	S	S	S	I	S	S	R	S
Cefoxitin	S	S	S	S	R	S	S	R	S
Ceftriaxone	S	S	S	S	I	S	S	R	S
Cefotaxime	S	S	S	S	I	S	S	R	S
Ceftiofur	S	S	S	S	R	S	S	R	S
Cefepime	S	S	S	S	I	S	S	I	S
Imipenem	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Meropenem	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ertapenem	S	S	S	S	R	S	S	R	R
Vancomycin	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Teicoplanin	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Amikacin	S	S	R	S	S	S	S	0	S
Gentamycin	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Neomycin	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Bacitracin	R	S	R	S	0	S	S	R	S
Clindamycin	S	S	S	S	I	I	S	R	S
Erythromycin	R	R	S	S	R	R	S	R	S
Doxycycline	S	S	S	R	S	I	S	I	S
Tetracycline	S	S	S	S	I	R	S	R	S
Linezolid	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	S	I	S	S	S	S	0	S
Rifampicin	S	S	R	R	R	S	R	S	R
Ciprofloxacin	S	S	S	S	I	R	S	S	S
Enrofloxacin	S	S	S	R	I	I	S	R	S
Moxifloxacin	S	S	S	S	I	S	S	S	S
Levofloxacin	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sulfonamides	I	R	S	0	0	0	R	R	R
Trimethoprim	S	S	S	R	R	I	S	S	S
Total of Resistant	5	3	3	4	16	4	3	18	3
Total of Intermediates	1	0	1	0	10	4	0	4	0
Total of Susceptible	31	34	33	32	9	29	34	13	34

S: Susceptible; I: Intermediate; R: Resistant; 0: No result.

Isolate SCP301 showed the lowest susceptibility, with only nine of the 37 antimicrobials. The isolate with the highest resistance was SCP479, resistant to 18 antimicrobials. On average, multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates were resistant to 4 antimicrobials, with a standard deviation of 5.98. The average sensitivity was to 32 antimicrobials, with a standard deviation of 9.64.

The antimicrobial with the highest resistance, and at the same time the lowest susceptibility, among the multidrug-resistant isolates from animals was Sulfonamide. The susceptibility results for each active ingredient antimicrobial are shown in Table 4.

Among the antimicrobials included in this study, the combination of Ampicillin with Sulbactam was fully sensitive among the multidrug-resistant isolates, however, among all isolates (multidrug-resistant and non-multidrug-resistant, also found in milk samples from this study), was observed 99.24% of susceptible. The same occurred with Levofloxacin, among the multidrug-resistant isolates, pansusceptibility was observed, but if the non-multidrug-resistant isolates of coagulase-positive *Staphylococcus*, also originated from the milk samples, are considered, the susceptibility was 99.22%. No isolates with any way of reduced susceptibility to Imipenem and Meropenem were found.

When comparing the similarity of the two groups of multidrug-resistant isolates, a Jaccard Similarity Coefficient of 0.675676 was found for antimicrobials scored binomially (yes, or no) with resistance for the group. It's important to note that the range varies from 0 to 1, where 0 represents completely different groups, and 1 represents exactly the same groups.

Table 4: Susceptibility of multidrug-resistant isolates of positive coagulase *Staphylococcus* from animals

Antimicrobials	Number of resistant isolates	Proportion (per cent) of resistant isolates	Number of susceptible isolates	Proportion (per cent) of susceptible isolates
Penicillin G	3	33.33%	6	66.67%
Oxacillin	4	44.44%	5	55.56%
Ampicillin	3	33.33%	6	66.67%
Amoxicillin + Clavulanic Acid	1	11.11%	7	77.78%
Ampicillin + Sulbactam	0	0.00%	9	100.00%
Piperacillin + Trazobactam	1	11.11%	8	88.89%
Cephalexin	2	22.22%	7	77.78%
Cephalothin	2	22.22%	7	77.78%
Cefazolin	2	22.22%	6	66.67%
Cefuroxime	2	22.22%	6	66.67%
Cefoxitin	2	22.22%	7	77.78%
Ceftriaxone	1	11.11%	7	77.78%
Cefotaxime	1	11.11%	7	77.78%
Ceftiofur	2	22.22%	7	77.78%
Cefepime	0	0.00%	7	77.78%
Imipenem	0	0.00%	9	100.00%
Meropenem	0	0.00%	9	100.00%
Ertapenem	3	33.33%	6	66.67%
Vancomycin	1	11.11%	8	88.89%
Teicoplanin	1	11.11%	8	88.89%
Amikacin	1	12.5%	7	87.50%
Gentamycin	1	11.11%	8	88.89%
Neomycin	1	11.11%	8	88.89%
Bacitracin	2	22.22%	5	55.56%
Clindamycin	1	11.11%	6	66.67%
Erythromycin	5	55.56%	4	44.44%
Doxycycline	1	11.11%	6	66.67%
Tetracycline	2	22.22%	6	66.67%
Linezolid	1	11.11%	8	88.89%
Chloramphenicol	0	0.00%	7	87.50%
Rifampicin	4	44.44%	5	55.56%
Ciprofloxacin	1	11.11%	7	77.78%
Enrofloxacin	1	11.11%	5	55.56%
Moxifloxacin	0	0.00%	8	88.89%
Levofloxacin	0	0.00%	9	100.00%
Sulfonamides	4	66.67%	1	16.67%
Trimethoprim	2	22.22%	6	66.67%
Average	1	11.11%	7	77.78%
Standard Deviation	1.26	15.60%	1.56	17.24%

The human coagulase-positive *Staphylococcus* isolates in this study showed a higher average antimicrobial resistance than the group of isolates from animals. This is illustrated in Figure 1.

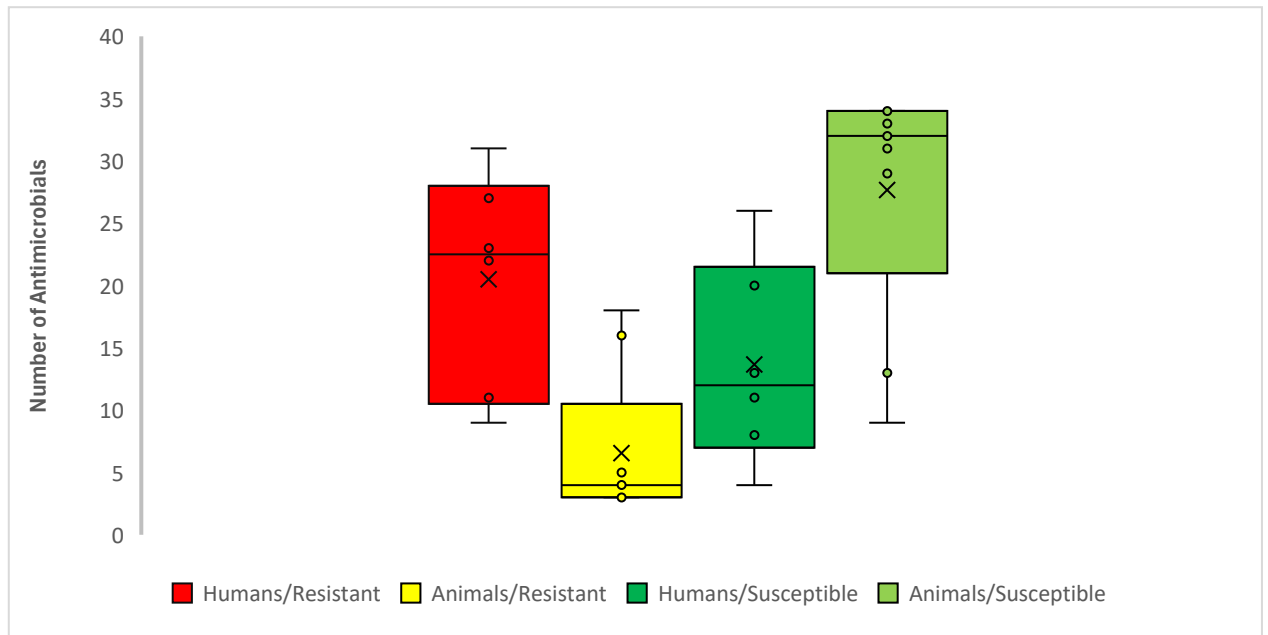


Figure 1: Number of resistant and susceptible antimicrobials to isolates from animals and humans

When comparing if there is an association between the origin of the isolates and the association in resistance to each antimicrobial, it was found that of the 37 active ingredients tested, 14 showed a statistically significant association, with $p < 0.05$ corresponding to 35.14%. The results are shown in Table 5.

A significant association was found between Penicillin G, Oxacillin, Ampicillin and Sulbactam, Cephalothin, Cefuroxime, Cefoxitin, Cefepime, Imipenem, Meropenem, Amikacin, Gentamycin, Clindamycin, Moxifloxacin and Levofloxacin. In all antimicrobials where there was a significant association with the group of origin, the group of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates of human origin had a higher proportion of resistant isolates.

Table 5: Comparison of the origin of the coagulase-positive *Staphylococcus* isolate from the southern region of Rio Grande do Sul – Brazil with the antimicrobial susceptibility profile

Antimicrobial	Isolated from Humans				Isolated from Animals				p-value
	Susceptible	Intermediate	Resistant	Total	Susceptible	Intermediate	Resistant	Total	
Penicillin G	0	0	6	6	6	0	3	9	0.0277
Oxacillin	0	0	6	6	5	0	4	9	0.04396
Ampicillin	2	0	4	6	6	0	3	9	0.3147
Amoxicillin + Clavulanic Acid	3	0	3	6	7	1	1	9	0.2352
Ampicillin + Sulbactam	3	0	3	6	9	0	0	9	0.04396
Piperacillin + Tazobactam	4	0	2	6	7	0	2	9	1
Cephalexin	2	0	4	6	7	0	2	9	0.1357
Cephalothin	1	0	5	6	7	0	2	9	0.04056
Cefazolin	1	1	4	6	6	1	2	9	0.1678
Cefuroxime	0	2	4	6	6	1	2	9	0.04795
Cefoxitin	0	0	6	6	7	0	2	9	0.006993
Ceftriaxone	1	1	4	6	7	1	1	9	0.05455
Cefotaxime	2	0	4	6	7	1	1	9	0.08891
Ceftiofur	2	0	4	6	7	0	2	9	0.1357
Cefepime	2	0	4	6	7	2	0	9	0.01818
Imipenem	3	0	3	6	9	0	0	9	0.04396
Meropenem	3	0	3	6	9	0	0	9	0.04396
Ertapenem	1	0	5	6	6	0	3	9	0.1189
Vancomycin	5	0	1	6	8	0	1	9	1
Teicoplanin	6	0	0	6	8	0	1	9	1
Amikacin	1	1	4	6	7	0	1	8	0.02564
Gentamycin	2	1	3	6	8	0	1	9	0.04695
Neomycin	2	0	4	6	8	0	1	9	0.08891
Bacitracin	5	0	1	6	5	0	3	8	0.5804
Clindamycin	0	0	6	6	6	2	1	9	0.001598
Erythromycin	1	0	5	6	4	0	5	9	0.5804
Doxycycline	4	2	0	6	6	2	1	9	1
Tetracycline	2	0	4	6	6	1	2	9	0.2867
Linezolid	6	0	0	6	8	0	1	9	1
Chloramphenicol	5	0	1	6	7	1	0	8	0.6926
Rifampicin	2	1	3	6	5	0	4	9	0.7552
Ciprofloxacin	2	0	4	6	7	1	1	9	0.08891
Enrofloxacin	1	1	4	6	5	3	1	9	0.1109
Moxifloxacin	2	3	1	6	8	1	0	9	0.04695
Levofloxacin	2	2	2	6	9	0	0	9	0.01099
Sulfonamides	1	0	5	6	1	1	4	6	1
Trimethoprim	4	1	1	6	6	1	2	9	1

Considering all coagulase-positive *Staphylococcus* isolates obtained from the analyzed milk samples (multidrug-resistant and non-multidrug-resistant), the lowest sensitivities were found against Sulfonamides (26.67%), Trimethoprim (74.81%), Penicillin G (83.21%), Erythromycin (87.02%), and Clindamycin (87.79%). All other active ingredients antimicrobials showed sensitivity above 90% of the isolates.

Among all coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from dairy cow samples, the highest resistances were observed against Sulfonamides

(64.76%), Trimethoprim (18%), and Penicillin G (16.79%). Resistance to the other active ingredients were less than 10%.

3. Discussion

This study corroborates with current WHO concerns, as it found that no antimicrobial showed absolute sensitivity against all coagulase-positive *Staphylococcus* bacterial isolates, either from humans or from animals. Especially in isolates from humans, only one class was fully sensitive, the oxazolidinones, represented by Linezolid, that is a drug that should be used with restriction [18, 19].

The study of Jara et al [13] showed that the profile of patients with *S. aureus* in hospitals in Pelotas city, which is the main city in the geographical region covered in this study, are men, aged between 50 and 59 years old, hospitalized outside Intensive Unit Care (IUC), having skin infections. When evaluating the antimicrobial susceptibility profile, the bacteria were grouped by microscopic characterization, and among the multidrug-resistant Gram-positive cocci, the greatest resistance was observed against macrolides, with 95.4%, Lincosamides, with 90.3%, and Penicillins, with 77.4%. In that study, Oxazolidinones showed some degree of resistance against Gram-positive cocci.

The Jaccard Similarity Coefficient needs to be interpreted carefully, as it requires a binomial assessment of the presence or absence of resistance to the active ingredients antimicrobial in the groups of human and animal isolates. Shortly, it shows that there is similarity in the resistance profile of the group, but it does not quantify proportions, since the isolates do not necessarily show resistance to the same number of antimicrobials, or resistance to a particular antimicrobial is not necessarily more or less prevalent. Despite this interpretative consideration, it has ever been used by other study [20] to compare the susceptibility profile between isolates from different farms and corroborates the possibility of interspecies transmission of microorganisms with resistance factors.

In this study, between all coagulase-positive *Staphylococcus* isolates obtained from milk samples from dairy cows, the lowest sensitivities found were against Sulfonamides, Trimethoprim, Penicillin G, Erythromycin, and Clindamycin. Considering that antimetabolites and folate inhibitors, that is the case of Sulfonamides and Trimethoprim, usually they are tested in humans only for isolates from urinary tract infections [17], the group coincides with those that were pointed [13] as the most resistant in humans in the same region. However, this is not the case when only multidrug-resistant isolates are considered.

While this similarity in profile was observed in this study, it is necessary to consider that there is no epidemiological link that could constitute direct contamination of people by multidrug-resistant microorganisms in animals. There is a time lapse of more than three years

between the collections, with the group of people being collected before the group of animals.

The incidence of multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates of 6.87% is very close to what was found in the state of Pernambuco state - Brazil[21], where was 7% of multidrug-resistant *S. aureus* isolates in dairy cattle, in a collection system similar with this work. In Pernambuco state also was found greater resistance in their *S. aureus* isolates against Penicillin, Clindamycin, and Erythromycin. Unlike this study, they tested the combination of Sulfamethoxazole with Trimethoprim, and not Sulfonamides and Trimethoprim isolated, so the comparison of results of antimetabolites and folate inhibitors becomes limited. However, the profile found was like that found in humans in Pelotas hospitals [13] and by this study, considering the lower overall sensitivity of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates. In this sense, a multicenter study is necessary, using molecular techniques, to verify if there is a correlation between isolates from different regions of the country, in different hosts. Comparing the results of this study with those conducted in Pelotas city [13] could be suggested that the geographical factor would be determinant in the antimicrobial susceptibility profile, however, the findings Pernambuco state do not allow this statement without proper molecular clarification.

This study highlights the presence in samples from dairy cows of coagulase-positive *Staphylococcus* isolates resistant to antimicrobials not routinely used in milk production, such as Ertapenem, Vancomycin, and Linezolid, for which there are no products registered for use in this species with the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) [22]. Different resistance mechanisms and genetic factors are associated with resistance in *Staphylococcus* spp., already was demonstrate [23], and by someday it arrives in dairy cattle.

Based on the hypothesis that microorganisms acquire resistance due to contact with antimicrobials[15], it would be necessary to expose the animals to the active ingredients. This would not be impossible, since they could be present in the environment [24], which would corroborate the idea that livestock production would be a disseminator of multidrug-resistant bacteria [25]. However, where an association was found between antimicrobial resistance and the group from which the isolate originated, in most cases, this was with the group originating from humans, it fell down.

Based on the finding in this study that resistance among multidrug-resistant isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* in the region covered was associated with the group of isolates originating from humans, and the verification that there were isolates in animals resistant to antimicrobials that are not for clinical use in dairy cattle, it is demonstrated that there was zooanthroponotic transmission, that is, from humans to animals, of these resistance factors. This had already been suggested by a similar experiment conducted in Colombia, where the

authors understood that multidrug-resistant *S. aureus* were being transmitted from people to animals [26].

The transmission of resistance factors from people to dairy cows could be explained by the fact that there is direct manipulation of the teats by the milker. Similarly, environmental assimilation due to deficient water and effluent treatment cannot be excluded, since carbapenemase genes were found in the environment in Rio Grande do Sul state [27]. Discovering the mode of transmission of multidrug-resistant isolates to dairy herds is necessary for implementing appropriate biosecurity actions to mitigate the risk of direct transmission and biosafety attitudes to prevent indirect transmission.

This study demonstrated that although there is a very diverse group of antimicrobials whose sensitivity is not complete in isolates from animal samples, human multidrug-resistant isolates showed resistance to many more antimicrobials concomitantly than animal multidrug-resistant isolates. This raises the question of a possible greater exposure and/or use of antimicrobials by human medicine than by animal medicine, since the manifestation of resistance by the microorganism requires this exposure [15].

The lowest susceptibility found in this study, among all coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from dairy cows (not just the multidrug-resistant ones), was against Penicillin G. Other study also pointed out that Penicillin was the active ingredient with the highest resistance [28]. In multidrug-resistant isolates from humans, the resistance against Penicillin G was total, as resistance against Clindamycin. Both Penicillin G and Clindamycin showed a statistical significative association with the group from humans when compared only among multidrug-resistant isolates.

The authors understand that there is a limitation in the present study due to the agar disk diffusion antibiogram methodology. Antimicrobials such as glycopeptides, represented in this study by Vancomycin and Teicoplanin, as well as Bacitracin, should preferably be tested in antibiograms using the serial microdilution technique to obtain the minimum inhibitory concentration (MIC). However, the agar disk diffusion technique is widely used and made it feasible to conduct a study covering 37 antimicrobials simultaneously, which allows for a broader view of the susceptibility profile of the isolates tested. In the specific case of Bacitracin, a cutoff point of 10 mm was assumed, based on Baker, Hackett and Simard (1986) [29], who indicated a sensitivity of 100% and a specificity of 94.6%.

Finally, the authors understand that not only MRSA should be a concern, but all multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus*. It was observed that not all multidrug-resistant isolates found were in fact resistant to methicillin, as measured by resistance to Cefoxitin, as currently recommended [17], or measured by Oxacillin, as was done in the past.

4. Materials and Methods

For the present study, isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* known to be multidrug-resistant, independent and from the same geographic region, the southern zone of Rio Grande do Sul state, Brazil, were used. The first group came from people, and the second from dairy cows. There is no known epidemiological correlation between people and animals.

The first group was isolated from people hospitalized in hospitals in Pelotas/RS – Brazil, that is the main city in the southern zone of the State of Rio Grande do Sul, where patients from different smaller cities around converge. These bacterial isolates were stored in the bacteria bank of the Institute of Biology of the Federal University of Pelotas, frozen at -18°C. At the time of collection, the people presented various pathologies, and the bacterial isolates were obtained as donation from the hospitals for study, after carrying out culture tests of surfaces and fluids intended for the diagnosis of the sick. In total, seven bacterial isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* from humans were used, sent after antibiogram testing by hospitals, and identified by them as multidrug-resistant. The human isolate bank was formed between 2018 and 2019.

To recover the coagulase-positive *Staphylococcus* isolates, the cryotubes were thawed, and a 0.1ml aliquot was incubated in tubes containing 3ml of brain-heart infusion (BHI) broth for 18 hours at 37°C. After, a 10mcl aliquot was seeded on Baird Parker agar enriched with 1% potassium tellurite and 5% egg yolk emulsion. The plates were incubated at 37°C for 48 hours. After obtaining the colonies, they were transferred to a non-selective and non-chromogenic medium for biochemical assays to confirm identification and perform antibiograms, as it's recommended [30]. Due to laboratory standardization, the chosen medium was standard count agar (PCA), with surface seeding.

The second group of coagulase-positive *Staphylococcus* was obtained from raw milk samples from dairy cows with clinical and subclinical mastitis, diagnosed according is recommended [31], between the years 2024 and 2025. In total, 678 samples were analyzed, obtaining 140 isolates of coagulase-positive *Staphylococcus*. From these, 131 were subjected to antibiograms, finding nine multidrug-resistant isolates.

To obtain the isolates, the same technique used in a similar study that was conducted in the same region [32]. A 10mcg aliquot of raw milk was seeded on plates containing agar base enriched with 5% defibrinated blood. The plates were incubated at 37°C for 48 hours, and a reading was done after 24 hours. After observing bacterial growth, a macroscopic evaluation was performed to identify different characteristics such as color, appearance, and size of the colonies. Colonies with different characteristics were analyzed by optical microscopy, by Gram slides.

The genus *Staphylococcus* spp. of the Gram-positive cocci from the second group were identified using the catalase test with 10-volume hydrogen peroxide. The *Staphylococcus* sp. colonies were then transferred to tubes containing BHI broth and incubated for 18 hours at 37°C. After verifying the increase in turbidity, the coagulase test was performed by

adding 0.3ml of plasma and 0.1ml of broth containing the cultured isolate to an Eppendorf tube. The Eppendorf tubes were incubated at 37°C for 24 hours, with a reading taken after 6 hours of incubation.

From the PCA plates of the first group (humans isolates of positive-coagulase *Staphylococcus*), the identification of the isolates was confirmed by optical microscopy, verifying Gram-positive cocci on slides. Then, the catalase test with 10-volume hydrogen peroxide and the coagulase test were performed, in the same way as for the second group.

For validation of the biochemical assays of both groups (isolates from humans and isolates from animals), the ATCC 25923 strain (American Type Culture Collection) was used as a positive control. Sterile BHI broth was used as a negative control. All culture media were subjected to sterility testing through overnight incubation.

An antibiogram was performed for each isolate using the agar disk diffusion technique. To perform the antibiogram, the colonies were dissolved in a 0.85% sodium chloride (NaCl) saline solution until the inoculum reached 0.5 on the McFarland scale. The Viteck Densicheck equipment was used to read the scale.

The inoculum was seeded onto Muller-Hinton agar plates using a sterile swab. Then, commercial disks impregnated with the antimicrobials to be tested were placed, and the plates were incubated for 18-24 hours at 37°C.

In total, 37 active ingredients from different classes were tested. The following antimicrobials were tested: Penicillin G; Oxacillin; Ampicillin; Amoxicillin with Clavulanic Acid; Ampicillin with Sulbactam; Piperacillin with Tazobactam; Cephalexin; Cephalothin; Cefazolin; Cefuroxime; Cefoxitin; Ceftriaxone; Cefotaxime; Ceftiofur; Cefepime; Imipenem; Meropenem; Ertapenem; Vancomycin; Teicoplanin; Amikacin; Gentamicin; Neomycin; Bacitracin; Erythromycin; Clindamycin; Doxycycline; Tetracycline; Linezolid; Rifampicin; Chloramphenicol; Ciprofloxacin; Enrofloxacin; Moxifloxacin; Levofloxacin; Sulfonamides; and Trimethoprim.

After incubating the plates, the size of the inhibition halo formed around the discs impregnated with the antimicrobials was measured using a millimeter ruler on a dark background surface. The characterization of each coagulase-positive *Staphylococcus* isolate as "Susceptible," "Intermediate," or "Resistant" was done according to Table 6. When the presence of satellite colonies was verified, the isolate was considered resistant.

Table 6: Metric criterion for the size of the inhibition halo read in antibiograms (in millimeters) used to classify coagulase-positive *Staphylococcus* isolates of human and animal origin as susceptible, intermediate, or resistant to each antimicrobial

Antimicrobial	Size of inhibitory range to classification as Resistant/Intermediate/Sensible	Corresponding Reference
Penicillin G	$\leq 28/\geq 29$	[17]
Oxacillin	$\leq 10/\geq 13$	[33]
Ampicillin	$\leq 28/\geq 29$	[34]
Amoxicillin + Clavulanic Acid	$\leq 19/\geq 20$	[34]
Ampicillin + Sulbactam	$\leq 11/\geq 15$	[34]
Piperacillin + Trazobactam	$\leq 17/\geq 18$	[34]
Cephalexin	$\leq 14/\geq 18$	[33]
Cephalothin	$\leq 14/\geq 18$	[33]
Cefazolin	$\leq 14/\geq 18$	[33]
Cefuroxime	$\leq 14/\geq 18$	[34]
Cefoxitin	$\leq 21/\geq 22$	[17]
Ceftriaxone	$\leq 13/\geq 21$	[34]
Cefotaxime	$\leq 14/\geq 23$	[34]
Ceftiofur	$\leq 17/\geq 21$	[35]
Cefepime	$\leq 14/\geq 18$	[34]
Imipenem	$\leq 13/\geq 16$	[34]
Meropenem	$\leq 13/\geq 16$	[34]
Ertapenem	$\leq 15/\geq 19$	[34]
Vancomycin	≤ 15	[34]
Teicoplanin	$\leq 10/\geq 14$	[34]
Amikacin	$\leq 14/\geq 17$	[34]
Gentamycin	$\leq 12/\geq 15$	[17]
Neomycin	$\leq 12/\geq 17$	[33]
Bacitracin	≥ 10	[29]
Clindamycin	$\leq 14/\geq 21$	[17]
Erythromycin	$\leq 13/\geq 23$	[17]
Doxycycline	$\leq 12/\geq 16$	[17]
Tetracycline	$\leq 14/\geq 19$	[17]
Linezolid	≥ 21	[36]
Chloramphenicol	$\leq 12/\geq 18$	[17]
Rifampicin	$\leq 16/\geq 20$	[17]
Ciprofloxacin	$\leq 15/\geq 21$	[17]
Enrofloxacin	$\leq 17/\geq 22$	[33]
Moxifloxacin	$\leq 20/\geq 24$	[17]
Levofloxacin	$\leq 15/\geq 19$	[17]
Sulfonamides	$\leq 12/\geq 17$	[17]
Trimethoprim	$\leq 10/\geq 16$	[37]

To determine and compare the similarity in susceptibility and resistance between groups of multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates of human and animal origin, the Jaccard Similarity Coefficient was used. Initially, the results of the antibiograms were tabulated in Microsoft Excel 365, and the active ingredients antimicrobial to which resistance was shown in each group of isolates were recorded. The calculation was given by the formula $J a, b = \frac{|a \cap b|}{|a \cup b|}$. Where “a” and “b” were the groups of multidrug-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* isolates from humans and animals.

The association between the origin of the isolate and resistance to each antimicrobial was verified using Fisher's Exact test. Tests with $p < 0.05$

were considered significant. To perform the tests, contingency tables were created in Microsoft Excel 365, and the test was made in RStudio.

The collection, use, and storage of bacterial isolates from humans, used in this study was evaluated by the Research Ethics Committee of the Federal University of Pelotas and approved by report number 2,985,372 and 2,961,379. The collection of bovine milk samples was evaluated by the Ethics Committee for the Use of Animals of the Federal University of Pelotas (CEUA/UFPEL) and approved, being registered under number 021682/2024-28.

After the completion of the tests, all isolates of animal origin were identified, stored in cryotubes, and frozen at -18°C at the Veterinary College of the Federal University of Pelotas. All viable forms of microorganisms in culture plates and tubes were destroyed by autoclaving at 125°C for 30 minutes, and disposable materials that came in contact with viable microorganisms were sent for incineration by a specializing company in the collection of contaminated waste convened with the Federal University of Pelotas. All microorganisms of human origin that were removed from the Institute of Biology were completely destroyed, without being stored in any other department than the one of origin.

5. Conclusions

Based on findings of this study, it is possible say that there were no pan-resistant isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* on south region of Rio Grande do Sul state, but at the same time, no active ingredient antimicrobial was fully effective in vitro against all isolates, or there were resistant isolates in humans, or in animals. This allows us to conclude that multidrug resistance of coagulase-positive *Staphylococcus* is a serious problem present in the southern region of Rio Grande do Sul, affecting both humans and dairy herds.

It was also possible to conclude that there is some similarity between the resistance profiles of the isolates, but with several antimicrobials associated with multidrug-resistant isolates from humans. Thus, it is suggested that there is transit of antimicrobial resistance factors from humans to animals, however, studies are needed to confirm this route of dissemination of multidrug-resistant microorganisms, its impact on the own health of humans, and how to mitigate it.

Author Contributions: Conceptualization, L.S.B, H.G.L and P.S.N; methodology, L.S.B, H.G.L and P.S.N; software, L.S.B; G.M.P; validation, G.M.P.; formal analysis, L.S.B.; G.M.P; investigation, L.S.B; H.G.L.; M.C.J.; resources, L.S.B.; H.G.L.; M.C.J.; P.S.N.; data curation, L.S.B.; writing—original draft preparation, L.S.B.; writing—review and editing, H.G.L.; P.S.N.; visualization, P.S.N.; supervision, H.G. L.; P.S.N.; project administration, H.G.L.; P.S.N.; funding acquisition, P.S.N.;

Funding: This research was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brazil, grant number 001”

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by ETHICS COMMITTEE OF FEDERAL UNIVERSITY OF PELOTAS FOR STUDIES INVOLVING HUMANS (protocols 2,985,372 and 2,961,379). The animal study protocol was approved by the ETHICS COMMITTEE OF ANIMALS USE OF FEDERAL UNIVERSITY OF PELOTAS (protocol code 021682/2024-28).

Informed Consent Statement: The obtains of isolates from humans were made by a deal between the hospitals in Pelotas city and Federal University of Pelotas, approved by Ethics Committee to form the bacteria bank. The milk sample from cows obstinance were conducted by Veterinary supervision on all animals, and the owners signed the authorization that was attach in medical record according Ethical Code of Brazilian Federal Council of Veterinary Medicine

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

MRSA	Methicillin Resistance <i>Staphylococcus aureus</i>
WHO	World Health Organization
ANVISA	National Sanitary Vigilance Agency of Brazil
Mm	Millimeter
IUC	Intensive Unit Care
MIC	Minimal Inhibitory Concentration
MAPA	Agricultural, Livestock and Supply Minister of Brazil
BHI	Brain-Hart Infusion
PCA	Standard Count Plate Agar
ATCC	American Type Culture Collection

References

1. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à saúde: módulo 10 – detecção dos principais mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos pelo laboratório de microbiologia clínica*; ANVISA: Brasília, Brazil, 2020.
2. World Health Organization. *WHO bacterial priority pathogens list: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*; WHO: Geneva, Switzerland, 2024.
3. Acosta, A.C.; Silva, L.B.G.; Medeiros, E.S.; Pinheiro-Júnior, J.W.; Mota, R.A. Mastites em ruminantes no Brasil. *Pesqui. Vet. Bras.* **2016**, *36*, 565–573. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000700001>.

4. Ray, G.T.; Suaya, J.A.; Baxter, R. Incidence, microbiology, and patient characteristics of skin and soft-tissue infections in a U.S. population: A retrospective population-based study. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 252. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-252>.
5. Self, W.H.; Wunderink, R.G.; Williams, D.J.; Zhu, Y.; Anderson, E.J.; Balk, R.A.; et al. Staphylococcus aureus community-acquired pneumonia: Prevalence, clinical characteristics, and outcomes. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *63*, 300–309. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw300>.
6. Lima, G.C.; Loiko, M.R.; Casarin, L.S.; Tondo, E.C. Assessing the epidemiological data of Staphylococcus aureus food poisoning occurred in Southern Brazil. *Braz. J. Microbiol.* **2013**, *44*, 759–763. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013005000063>.
7. Smeltzer, M.S.; Beenken, K.E. Staphylococcus. In *Microbiologia Veterinária*, 3rd ed.; McVey, D.S.; Kennedy, M.; Chengappa, M.M., Eds.; Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, Brazil, 2016; pp. 189–198.
8. Moreira, M.A.S.; Costa, M.M.; Schwarz, D.G.G.; Braga, I.F.E.; Carvalho, I.A.; Magna, C.L.; et al. Mastites em rebanhos leiteiros. In *Cadeias leiteiras no Brasil: produção, sanidade e processamento*; Eds UFV: Viçosa, Brazil, 2024; pp. 134–153.
9. Tomazi, T.; Santos, M.V. Antimicrobial use for treatment of clinical mastitis in dairy herds from Brazil and its association with herd-level descriptors. *Prev. Vet. Med.* **2020**, *176*, 104937. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104937>.
10. Benítez, G.; Cruz, I.; Larriestra, A. Total cost of bovine mastitis and economic impact of improvement of udder health plans in commercial dairy herds in Uruguay. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* **2025**, *62*, e227117. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2025.227117>.
11. Fontana, V.L.D.S.; Giannini, M.J.S.M.; Fontana, C.A.P.; Leite, C.Q.F.; Stella, A.E. Molecular characterization of staphylococci isolated from cows with subclinical mastitis and milkers. *Arq. Inst. Biol.* **2012**, *79*, 469–476.
12. Bandeira, F.S.; Picoli, T.; Zani, J.L.; Silva, W.P.; Fischer, G. Frequency of Staphylococcus aureus in cases of subclinical bovine mastitis in Southern Brazil. *Arq. Inst. Biol.* **2013**, *80*, 1–6.
13. Jara, M.C.; Frediani, A.V.; Zehetmeyer, F.K.; Bruhn, F.R.P.; Müller, M.R.; Miller, R.G.; Nascente, P.D.S. Multidrug-resistant hospital bacteria: Epidemiological factors and susceptibility profile. *Microb. Drug Resist.* **2021**, *27*, 433–440. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0209>.
14. McEwen, S.A.; Collignon, P.J. Antimicrobial resistance: A One Health perspective. *Microbiol. Spectr.* **2018**, *6*, ARBA-0009-2017. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>.
15. Gullberg, E.; Cao, S.; Berg, O.G.; Ilbäck, C.; Sandegren, L.; Hughes, D.; Andersson, D.I. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathog.* **2011**, *7*, e1002158. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002158>.
16. Spinosa, H.S. Beta-lactam antibiotics. In *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*, 6th ed.; Spinosa, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M., Eds.; Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, Brazil, 2019; pp. 480–488.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 34th ed.; CLSI supplement M100; CLSI: Wayne, PA, USA, 2024.
18. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Diretriz nacional para elaboração de programa de gerenciamento de antimicrobianos em serviços de saúde*; ANVISA: Brasília, Brazil, 2023.
19. Moja, L.; Zanichelli, V.; Mertz, D.; Gandra, S.; Cappello, B.; Cooke, G.S.; et al. WHO's essential medicines and AWaRe: Recommendations on first- and second-choice antibiotics for empiric treatment of clinical infections. *Clin. Microbiol. Infect.* **2024**. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.02.003>.
20. Almeida, P.V.; Cunha Neto, A.; Anjos, T.R.; Dias, N.S.; Andrade, K.R.N.C.; Nascimento, J.G.O.; Figueiredo, E.E.S.; Carvalho, R.C.T. Isolation of Escherichia coli and Staphylococcus aureus in raw milk from refrigeration tanks. *Acta Vet. Bras.* **2022**, *16*, 205–210. <https://doi.org/10.21708/avb.2022.16.3.10768>.
21. Silva, A.T.F.; Gonçalves, J.L.; Dantas, S.T.A.; Rall, V.L.M.; Oliveira, P.R.F.; Santos, M.V.; Peixoto, R.M.; Mota, R.A. Genetic and phenotypic characterization of subclinical mastitis-causing multidrug-resistant Staphylococcus aureus. *Antibiotics* **2023**, *12*, 1353. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12091353>.

22. Brasil. Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA). *Public platform for the registration of pharmaceutical products*. MAPA: Brasília, Brazil. Available online: https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/Produtos_Farmaceuticos/Produtos_Farmaceuticos.html (accessed on 19 January 2026).
23. Vestergaard, M.; Frees, D.; Ingmer, H. Antibiotic resistance and the MRSA problem. *Microbiol. Spectr.* **2019**, *7*, GPP3-0057-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018>.
24. Vinod, D.; Battula, P.; Pulipati, S.; Veena, M.R.; Rasool, A.; et al. Ecotoxicity assessment and detection of antimicrobial compounds in urban environments and AMR hotspots. *Sci. Rep.* **2025**, *15*, 38274. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-24102-8>.
25. Robles-Jimenez, L.E.; Aranda-Aguirre, E.; Castelan-Ortega, O.A.; Shettino-Bermúdez, B.S.; Ortiz-Salinas, R.; et al. Worldwide traceability of antibiotic residues from livestock in wastewater and soil: A systematic review. *Animals* **2022**, *12*, 60. <https://doi.org/10.3390/ani12010060>.
26. Rodríguez, M.F.; Gomez, A.P.; Ceballos-Garzón, A. Antimicrobial resistance profiles of Staphylococcus isolated from cows with subclinical mastitis. *Antibiotics* **2023**, *12*, 1574. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111574>.
27. Cardoso, J.V.B.; Pereira, D.C.; Matos, W.L.; Oliveira, G.S.; Carvalho, V.R.; et al. Detection of Enterobacteriaceae and carbapenemases in flood waters from Southern Brazil. *Microorganisms* **2025**, *13*, 2365. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13102365>.
28. Lubna; Hussain, T.; Shami, A.; Rafiq, N.; Khan, S.; et al. Antimicrobial usage and detection of multidrug-resistant Staphylococcus aureus in raw milk. *Antibiotics* **2023**, *12*, 673. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040673>.
29. Baker, J.S.; Hackett, M.F.; Simard, D.J. Variations in bacitracin susceptibility observed in Staphylococcus and Micrococcus species. *J. Clin. Microbiol.* **1986**, *23*, 963–964. <https://doi.org/10.1128/jcm.23.5.963-964.1986>.
30. Ribeiro, M.C.; Stelato, M.M. *Microbiologia prática*; Atheneu: São Paulo, Brazil, 2011.
31. Santos, M.V.; Fonseca, L.F.L. *Controle da mastite e qualidade do leite: desafios e soluções*; Pirassununga, Brazil, 2019.
32. Dal Vesco, J.; Siebel, J.; Suzin, G.; Cereser, N.D.; Gonzalez, H. Monitoring mastitis agents and antimicrobial susceptibility. *Expressa Extensão* **2017**, *22*, 34–50. <https://doi.org/10.15210/ee.v22i1.7886>.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals*. 3rd ed.; CLSI document M31-A3; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2015.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 15th ed.; CLSI supplement M100; CLSI: Wayne, PA, USA, 2005.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing for bacteria isolated from animals*, 6th ed.; CLSI supplement VET01S; CLSI: Wayne, PA, USA, 2023.
36. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Tabelas brasileiras para interpretação de testes de sensibilidade aos antimicrobianos*; BrCAST: São Paulo, Brazil, 2024.
37. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*; CLSI Supplement M100, 33rd ed.; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2023.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

4 Considerações Finais

Diante das atuais demandas de mercado, do atual estrangulamento econômico dos produtores e dificuldades que ocorrem na pecuária leiteira na região sul do Rio Grande do Sul, que pode ser extrapolado também para outras regiões, quaisquer perdas podem significar comprometimento da sustentabilidade econômica das propriedades e famílias que ali trabalham. Nesse sentido, a otimização de manejos e medidas sanitárias preventivas são fundamentais para mitigar perdas decorrentes do adoecimento dos animais.

A mastite segue sendo a principal doença dos rebanhos leiteiros ao redor do mundo, e *Staphylococcus* coagulase positiva é atualmente o principal agente etiológico da região sul do Rio Grande do Sul. Deve-se observar que a prevalência de animais acometidos de forma subclínica é alta, 41,93%, indicando que é necessário que sejam adotadas medidas de controle da transmissão.

Os fatores de risco avaliados neste trabalho mostraram que rebanhos menores são mais susceptíveis a ocorrência de mastites. Na maioria das propriedades do estado, o número de animais é pequeno e voltado ao consumo da própria família e/ou equipes da propriedade. Também é desse perfil de propriedades que saem leite e derivados destinados direto ao consumidor, sem o devido credenciamento a órgãos de inspeção e fiscalização sanitária. Isso levanta a preocupação com os potenciais riscos associados ao consumo desses produtos pelo desenvolvimento de DTHAs.

O presente estudo demonstrou que há uma transmissão de seres humanos para animais de fatores de resistência de *Staphylococcus* coagulase positiva, ao mesmo tempo, demonstrou que nas condições testadas o uso, ou não do pré-dipping não interfere na prevalência de mastites, nem os sistemas de ordenha por si só. Surge a partir daí a preocupação acerca das mãos dos ordenhadores, que sabidamente são uma via de disseminação de mastites contagiosas.

É possível, devido ao fato de *S. aureus* ser comensal da pele e mucosas de seres humanos, que haja uma colonização das mãos dos ordenhadores com cepas munidas de genes de resistência, e que devido a higiene precária, esteja havendo a contaminação das vacas leiteiras e equipamentos que entram em contato com as

mesmas, mesmo após a aplicação do pré-dipping. É importante o desenvolvimento de novas investigações que busquem verificar essa hipótese.

A higiene de mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha deve ser uma preocupação constante de todas as propriedades. Isso irá colaborar com a mitigação da mastite, consequente redução de CCS, melhoria da qualidade do leite, ao mesmo tempo em que pode estar se evitando a veiculação de cepas multirresistentes de *Staphylococcus* coagulase positiva. Não obstante, a implementação de medidas de biossegurança nas propriedades é necessária para evitar a veiculação de patógenos multirresistentes.

Ao verificar que regionalmente houve aumento da resistência e redução da sensibilidade geral dos isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva, e que nenhum dos antimicrobianos testados apresentou absoluta sensibilidade, a preocupação geral da OMS acerca de microrganismos multirresistentes devem ser tratada localmente também com atenção. De alguma forma, através de mecanismos conhecidos, ou não, os genes de resistência à antimicrobianos que são usados apenas em humanos fenotipicamente se manifestou em bactérias isoladas em animais, o que descarta a hipótese de que essa resistência seja primária dos rebanhos leiteiros. Isso não significa que também não estejam sendo selecionados microrganismos resistentes através de tratamentos veterinários mal sucedidos, mas que ao comparar isolados multirresistentes humanos e animais, os isolados humanos foram mais resistentes do que os de animais.

Considerando que o conceito de saúde única sustenta-se sobre um tripé, composto pela saúde animal, humana e ambiental, e que bactérias multirresistentes são um problema de saúde única, é necessário também olhar pela óptica ambiental. A região sul do Rio Grande do Sul também foi afetada por inundações severas no ano de 2024, inclusive algumas das propriedades visitadas chegaram a ficar submersas, anteriormente a coleta das amostras onde foram encontrados os isolados multirresistentes dos animais. É possível que os microrganismos com os fatores de resistência que se manifestaram nos antibiogramas tenham chegado até os animais através da contaminação ambiental. Dessa forma é necessário investigar através de técnicas moleculares a semelhança genotípica dos microrganismos isolados em seres humanos e nos animais, bem como quais genes de resistência estão presentes em cada um.

Independentemente de como os microrganismos multirresistentes tenham chegado nos animais, é fundamental compreender o impacto que isso irá causar na saúde animal, e humana. É sabido que os tratamentos térmicos dados ao leite são capazes de destruir as formas viáveis das bactérias, mas é necessário verificar os efeitos dos processamentos industriais sobre a viabilidade de transmissão de genes de resistências ao próprio ser humano.

Por fim, é necessário o entendimento de que a busca pela manutenção da saúde dos animais leiteiros, como através do controle da mastite, é uma forma também de zelar pela saúde da espécie humana. Da mesma forma que o cuidado com o ambiente, colabora com a saúde das diferentes espécies que o coabitam. A partir disso, as medidas de biossegurança ganham um novo sentido, deixando de ser aplicáveis apenas para a proteção sanitária de rebanhos, mas exercendo uma barreira de proteção à saúde do próprio ser humano.

Referências

ABDI, R. D.; GILLESPIE, B. E.; VAUGHN, J.; MERRILL, C.; HEADRICK, S. I.; ENSERMU, D. B. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows and genetic diversity of resistant isolates. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 7, p. 449–458, 2018. DOI: 10.1089/fpd.2017.2362.

ABEBE, R.; MARKOS, A.; ABERA, M.; MEKBIB, B. Incidence rate, risk factors, and bacterial causes of clinical mastitis on dairy farms in Hawassa City, southern Ethiopia. **Scientific Reports**, v. 13, art. 10945, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-37328-1.

ABERA, A. Prevalence and associated risk factors of bovine mastitis in lactating cows of small holder dairy farms in Ethiopia. **Journal of Veterinary Medicine and Surgery**, v. 4, n. 2, p. 27, 2020. DOI: 10.36648/2575-2868.4.2.27

ACOSTA, A. C.; SILVA, L. B. G.; MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO-JÚNIOR, J. W.; MOTA, R. A. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 565–573, 2016. DOI: 10.1590/S0100-736X2016000700001.

AFTAB, R.; DODHIA, V. H.; JEANES, C.; WADE, R. G. Bacterial sensitivity to chlorhexidine and povidone-iodine antiseptics over time: a systematic review and meta-analysis of human-derived data. **Scientific Reports**, v. 13, art. 347, 2023. DOI: 10.1038/s41598-022-26658-1.

ALAGHEHBAND, F. R.; LYYTINEN, A. T.; ISANEJAD, M.; KOPRA, J.; KRÖGER, H.; RIKKONEN, T. Long-term consumption of liquid dairy products predicts lower fracture risk in aging women: a 25-year follow-up. **European Journal of Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 213, 2025. DOI: 10.1007/s00394-025-03709-7.

ALEXANDRINO, M.; GARDI, L. V.; BERTOLINI, A. B.; FLAMINIO, A. P.; VALIM, A. C.; SILVA, L. P. da; LEITE, B. dos S.; RANGEL, M. V.; AIRES, I. N.; ALENCAR, B. J.; BERTOZZO, T. V.; CURCI, V. C. L. M.; BRESCIANI, K. D. S.; PEREIRA, J. G.; PAES, A. C.; LUCHEIS, S. B. Molecular analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in refrigerated raw milk and geospatial distribution in Brazilian small farms. **Food Science and Technology**, v. 45, 2025. DOI: 10.5327/fst.484.

ALMEIDA, P. V.; CUNHA NETO, A.; ANJOS, T. R.; DIAS, N. S.; ANDRADE, K. R. N. C.; NASCIMENTO, J. G. O.; FIGUEIREDO, E. E. S.; CARVALHO, R. C. T. Isolation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in raw milk from refrigeration tanks. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 16, p. 205–210, 2022. DOI: 10.21708/avb.2022.16.3.1076

ALONSO, M. E.; GONZÁLEZ-MONTAÑA, J. R.; LOMILLOS, J. M. Consumers' concerns and perceptions of farm animal welfare. **Animals**, v. 10, n. 3, art. 385, 2020. DOI: 10.3390/ani10030385.

AMMANN, J.; MACK, G.; EL BENNI, N.; JIN, S.; NEWELL-PRICE, P.; TINDALE, S.; HUNTER, E. Consumers across five European countries prioritise animal welfare above environmental sustainability when buying meat and dairy products. **Food Quality and Preference**, v. 117, art. 105179, 2024. DOI: 10.1016/j.foodqual.2024.105179.

AOUATI, H.; HADJADJ, L.; AOUATI, F.; AGABOU, A.; BEN KHEDHER, M.; BOUSSEBOUA, H.; BENTCHOUALA, C.; ROLAIN, J.-M.; DIÈNE, S. M. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST239/241 SCCmec-III Mercury in Eastern Algeria. **Pathogens**, v. 10, n. 11, art. 1503, 2021. DOI: 10.3390/pathogens10111503.

BAKER, J. S.; HACKETT, M. F.; SIMARD, D. J. Variations in bacitracin susceptibility observed in *Staphylococcus* and *Micrococcus* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 23, p. 963–964, 1986. DOI: 10.1128/jcm.23.5.963-964.1986.

BANDEIRA, F. S.; PICOLI, T.; ZANI, J. L.; SILVA, W. P. da; FISCHER, G. **Frequência de *Staphylococcus aureus* em casos de mastite bovina subclínica, na região Sul do Rio Grande do Sul**. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 80, n. 1, p. 1–6, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/nnhgm37MBPCPcVLh9XZfJHw/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 7 jan. 2026.

BARROS, E. J. G.; MACHADO, A. R. L. Fluorquinolonas. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 246–251.

BARROS, L. M.; BENTO, J. N. C.; CAETANO, J. Á.; MOREIRA, R. A. N.; PEREIRA, F. G. F.; FROTA, N. M.; ARAÚJO, T. M. de; SOARES, E. Prevalência de microrganismos e sensibilidade antimicrobiana de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva de hospital público no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 429–435, 2012. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/281/279>. Acesso em: 30 jan. 2026.

BENÍTEZ, G.; CRUZ, I.; LARRIESTRA, A. Total cost of bovine mastitis and economic impact of improvement of udder health plans in commercial dairy herds in Uruguay. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 62, e227117, 2025. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2025.227117.

BITENCOURT, L. L.; LEITE, M. C. T.; CAZAROTI, E. P. F.; BOTELHO, F. N.; GIUBERTI, K. C.; SILVA, V. B. P. D. Identificação e sensibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas com mastite. **Revista Ifes Ciência**, v. 4, n. 1, p. 133–142, 2018. DOI: 10.36524/ric.v4i1.333.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à saúde: módulo 10 – detecção dos principais mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos pelo laboratório de microbiologia clínica**. Brasília: ANVISA, 2020. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10_manual-de-microbiologia.pdf. Acesso em: 14 jan. 2026.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diretriz nacional para elaboração de programa de gerenciamento de antimicrobianos em serviços de saúde**. Brasília: ANVISA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/DiretrizGerenciamentoAntimicrobianosANVISA2023FINAL.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2026.

BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 30 mar. 2017. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/d9013.htm. Acesso em 30 de janeiro de 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa MAPA nº 14, de 17 de maio de 2012**. Proíbe, em todo o território nacional, a importação, fabricação e o uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 18 maio 2012. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-14-de-17-de-maio-de-2012.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa SDA/MAPA nº 1, de 13 de janeiro de 2020**. Proíbe, em todo o território nacional, a importação, fabricação, comercialização e uso de aditivos melhoradores de desempenho que contenham os antimicrobianos tilosina, lincomicina e tiamulina, classificados como importantes na medicina humana. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 23 jan. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-1-de-13-de-janeiro-de-2020-239402385>. Acesso em: 27 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa MAPA nº 26, de 9 de julho de 2009**. Aprova o Regulamento Técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 9 jul. 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-mapa-no-26-de-9-07-2009.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa MAPA nº 45, de 22 de novembro de 2016**. Proíbe, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 22 nov. 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/legislacao/INSTRUONORMATIVAN45DE22DENOVEMBRODE2016.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002**. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 20 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011**. Altera a Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002, e estabelece novos parâmetros para a produção e qualidade do leite cru refrigerado, do leite pasteurizado e do leite tipo A. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 30 dez. 2011. Disponível em:

<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2018/06/IN62.pdf>. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade do leite cru refrigerado, do leite pasteurizado e do leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018**. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru refrigerado. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 78, de 26 de novembro de 2018**. Estabelece requisitos e procedimentos para o registro de provas zootécnicas visando o controle leiteiro e a avaliação genética de animais com aptidão leiteira. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Disponível em: <https://www.apcbrh.com.br/images/files/INSTRUCAONORMATIVAN78DE26DENOVEMBRODE2018.pdf>. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa MAPA nº 9, de 27 de junho de 2003**. Proíbe a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol e nitrofuranos e dos produtos que os contenham, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 30 jun. 2003. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-mapa-no-9-de-27-06-2003.pdf>. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. **Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999**. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 26 jan. 1999. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9782.htm. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Guia de uso racional de antimicrobianos para cães e gatos**. Coordenação: R. C. Rabelo. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/publicacoes/livroantimicrobianosv22.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2026.

BRASIL. **Portaria nº 2.616, de 12 de maio de 1998**. Dispõe sobre diretrizes e normas para a prevenção e o controle das infecções hospitalares. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 12 maio 1998. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria MAPA nº 146, de 7 de março de 1996**. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos produtos lácteos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 7 mar. 1996. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Portaria-n%C2%B0-146-de-7-de-mar%C3%A7o-de-1996.pdf>. Acesso em 30 jan. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plataforma pública para registro de produtos farmacêuticos**. Brasília: MAPA, [s.d.]. Disponível em: https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/Produtos_Farmaceuticos/Produtos_Farmaceuticos.html. Acesso em: 19 jan. 2026.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 44, de 26 de outubro de 2010**. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição médica, isoladas ou em associação, e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 26 out. 2010. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/servlet/INPDFViewer?captchafield=firstAccess&data=28%2F10%2F2010&jornal=1&pagina=76&utm>. Acesso em 30 de janeiro de 2026.

BRASIL. **Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020**. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 19 ago. 2020. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2020/Decreto/D10468.htm.

BRASIL. **Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952.** Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Diário Oficial da União: seção 1, Rio de Janeiro, 7 jul. 1952. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1950-1959/decreto-30691-29-marco-1952-339586-publicacaooriginal-1-pe.html>. Acesso em 30 jan. 2026.

BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (BrCAST). **Tabelas brasileiras para interpretação de testes de sensibilidade aos antimicrobianos.** Versão 2024. São Paulo: BrCAST, 2024.

BUSH, K.; BRADFORD, P. A. β -Lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, n. 8, art. a025247, 2016. DOI: 10.1101/cshperspect.a025247.

CADERNOS TÉCNICOS DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA. **Zootecnia de precisão em bovinocultura de leite.** n. 79. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais; Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais; FEPMVZ Editora, 2015. Disponível em: <https://www.vet.ufmg.br/ARQUIVOS/FCK/file/editora/caderno%20tecnico%2079%20zootecnia%20precisao%20bovinocultura%20leite.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2026.

CAMPOS, B.; PICKERING, A. C.; ROCHA, L. S.; AGUILAR, A. P.; FABRES-KLEIN, M. H.; MENDES, T. A. O.; FITZGERALD, J. R.; RIBON, A. R. O. B. Diversity and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis: current understanding and future perspectives. **BMC Veterinary Research**, v. 18, art. 115, 2022. DOI: 10.1186/s12917-022-03197-5.

CARDOSO, J. V. B.; PEREIRA, D. C.; MATOS, W. L.; OLIVEIRA, G. S.; CARVALHO, V. R.; *et al.* Detection of Enterobacteriaceae and carbapenemases in flood waters from Southern Brazil. **Microorganisms**, v. 13, art. 2365, 2025. DOI: 10.3390/microorganisms13102365.

CARVALHO, C. A.; GARCIA, P. T. Indicadores de saúde. In: REIS, R. S.; CARVALHO, C. A.; PINHO, J. R. O.; GARCIA, P. T. **Epidemiologia: conceitos e aplicabilidade no Sistema Único de Saúde.** São Luís: EDUFMA, 2017. p. 45–51.

CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A. Métodos de conservação de amostras de leite para determinação da contagem bacteriana total por citometria de fluxo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 2, p. 434–439, 2010. DOI: 10.1590/S1516-35982010000200029.

CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, F. N.; CUNHA, A. F.; PICININ, L. C. A.; LEITE, M. O.; PENNA, C. F. A. M.; *et al.* Detection of antimicrobial and anthelmintic residues in bulk tank milk from four different mesoregions of Minas Gerais State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 621–625, 2014. DOI: 10.1590/1678-41627274.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 33. ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI, 2023.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 15. ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI, 2005.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**. 3. ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015. (CLSI document M31-A3).

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

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing for bacteria isolated from animals**. 6. ed. CLSI supplement VET01S. Wayne, PA: CLSI, 2023.

COBIRKA, M.; TANCIN, V.; SLAMA, P. Epidemiology and classification of mastitis. **Animals**, v. 10, n. 12, art. 2212, 2020. DOI: 10.3390/ani10122212.

CONSTABLE, P. D.; HINCHCLIFF, K. W.; DONE, S. H.; GRÜNBERG, W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos e caprinos**. v. 1. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.

COSTA, F. D.; FUCHS, F. D. Outros antibacterianos usados em infecções inespecíficas. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 257–265.

CURRY, A. Archaeology: the milk revolution. **Nature**, v. 500, p. 20–22, 2013. DOI: 10.1038/500020a.

DAL VESCO, J.; SIEBEL, J.; SUZIN, G.; CERESER, N. D.; GONZALEZ, H. Monitoramento dos agentes causadores de mastite e a susceptibilidade aos antimicrobianos. **Expressa Extensão**, v. 22, n. 1, p. 34–50, 2017. DOI: 10.15210/ee.v22i1.7886.

DEGO, O. K; VIDLUND, J. Staphylococcal mastitis in dairy cows. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, art. 1356259, 2024. DOI: 10.3389/fvets.2024.1356259.

DENG, Z.; KOOP, G.; HOGEVEEN, H.; FISCHER, E. A. J.; VAN DEN BORNE, B. H. P.; VAN DER TOL, R.; LAM, T. J. G. M. Transmission dynamics of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in a Dutch dairy herd using an automatic milking system. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 192, art. 105384, 2021. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2021.105384.

DIVYA, V.; BATTULA, P.; PULIPATI, S.; VEENA, M. R.; RASOOL, A.; BHUVANESH, G.; MOHAMMAD, K.; WAHAB, S.; ANILKUMAR, K. M.; PUTTAIAH, S. H. Ecotoxicity assessment and detection of antimicrobial compounds in urban environments and AMR hotspots. **Scientific Reports**, v. 15, art. 38274, 2025. DOI: 10.1038/s41598-025-24102-8.

DOHMEN, W.; NEIJENHUIS, F.; HOGEVEEN, H. Relationship between udder health and hygiene on farms with an automatic milking system. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4019–4033, 2010. DOI: 10.3168/jds.2009-3028.

DUPLESSIS, C.; CRUM-CIANFLONE, N. F. Ceftaroline: a new cephalosporin with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Clinical Medicine Reviews in Therapeutics**, v. 3, 2011. DOI: 10.4137/CMRT.S1637.

EMATER/RS-ASCAR. **Relatório socioeconômico da cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul – 2023**. Porto Alegre: Emater/RS-ASCAR, 2025. Disponível em: <https://www.sistemafaep.org.br/wp-content/uploads/2025/09/RS-Relatorio-cadeia-produtiva-do-leite-2023-1.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2026.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Anuário leite 2024: avaliação genética multirracial**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024. 137 p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1164754>. Acesso em: 27 jan. 2026.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Anuário leite 2025: produção de leite e as mudanças climáticas**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; São Paulo: Texto Comunicação, 2025. 126 p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1176413>. Acesso em: 27 jan. 2026.

FILHO, J. D. R.; DANTAS, W. M. F.; AVANZA, M. F. B.; ALVES, S. R.; SILVA, M. O.; SANTOS, P. V. M.; MONTEIRO, L. C.; COSTA, C. M.; MENESES, R. M.; ERMITA, P. A. N.; VIANA, R. B.; DI FILIPPO, P. A. Equilíbrio ácido-base em vacas leiteiras. In: **Cadeias leiteiras no Brasil: produção, sanidade, processamento**. Viçosa: Editora UFV, 2024. p. 108–133.

FILHO, A. N.; FERREIRA, L. M.; DO AMARAL, L. A.; ROSSI, O. d.; OLIVEIRA, R. P. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 1, p. 1-4, 2007. DOI: 10.1590/1808-1657v74p0012007.

FONTANA, V. L. D. S.; GIANNINI, M. J. S. M.; FONTANA, C. A. P.; LEITE, C. Q. F.; STELLA, A. E. Molecular characterization of staphylococci isolated from cows with subclinical mastitis and milkers. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 79, p. 469–476, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/bmmftKfVfDLhVv97MtyhpVz/>. Acesso em 30 de jan. 2026.

FUCHS, F. D. Antibióticos betalactâmicos. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 232–240.

GANTNER, V.; JOŽEF, I.; GANTNER, R.; GREGIĆ, M.; STEINER, Z. The effect of farm size on the differences in mastitis prevalence and its consequences on milk production in Holstein cows. **Proceedings**, v. 94, n. 1, art. 26, 2024. DOI: 10.3390/proceedings2024094026.

GLEESON, D.; FLYNN, J.; O'BRIEN, B. Effect of pre-milking teat disinfection on new mastitis infection rates of dairy cows. **Irish Veterinary Journal**, v. 71, art. 11, 2018. DOI: 10.1186/s13620-018-0122-4.

GLEESON, D.; O'BRIEN, B.; FLYNN, J.; O'CALLAGHAN, E.; GALLI, F. Effect of pre-milking teat preparation procedures on the microbial count on teats prior to cluster application. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, p. 461–467, 2009. DOI: 10.1186/2046-0481-62-7-461.

GONÇALVES, J. L.; FREU, G.; GARCIA, B. L. N.; BARCELOS, M. M.; ALVES, B. G.; LEITE, R. F.; MONTEIRO, C. P.; MARTINS, C. M. M. R.; TOMAZI, T.; HOGEVEEN, H.; SANTOS, M. V. Effect of bovine subclinical mastitis on milk production and economic performance of Brazilian dairy farms. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 60, e208514, 2023. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2023.208514.

GÓRNIK, S. L. Sulfas, quinolonas e outros quimioterápicos anti-infecciosos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 469–479.

GULLBERG, E.; CAO, S.; BERG, O. G.; ILBÄCK, C.; SANDEGREN, L.; HUGHES, D.; ANDERSSON, D. I. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 7, e1002158, 2011. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002158.

HARROP, M. H. V.; PEREIRA, L. J. G.; BRITO, J. R.; MELLO, A. M. Incidência de mastite na bacia leiteira da Zona do Agreste Meridional de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 10, p. 65–67, 1975. DOI: 10.1590/S1678-3921.pab1975.v10.17174

HILLERTON, J. E.; SHEARN, M. F.; TEVERSON, R. M.; LANGRIDGE, S.; BOOTH, J. M. Effect of pre-milking teat dipping on clinical mastitis on dairy farms in England. **Journal of Dairy Research**, v. 60, p. 31–41, 1993. DOI: 10.1017/S0022029900027321.

HOTT, M. C.; ANDRADE, R. G.; MAGALHÃES JÚNIOR, W. C. P.; OLIVEIRA, L. A. A. Distribuição da produção de leite no Brasil nas duas últimas décadas. In: **Anuário leite 2025: produção de leite e as mudanças climáticas**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; São Paulo: Texto Comunicação, 2025. p. 12–15.

HUANG, P.-Y.; HSU, C.-K.; LIU, T.-H.; WU, J.-Y.; TANG, H.-J.; TSAI, Y.-W.; LAI, C.-C.; CHANG, Y.-H. Clinical efficacy of ertapenem vs. other carbapenems for the treatment of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacterales* infection: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 33, p. 201–207, 2023. DOI: 10.1016/j.jgar.2023.03.003.

HUANG, C. H.; KUSABA, N. Association between differential somatic cell count and California Mastitis Test results in Holstein cattle. **JDS Communications**, v. 3, p. 441–445, 2022. DOI: 10.3168/jdsc.2022-0249.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 6888-1: microbiology of food and animal feeding stuffs — horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: technique using Baird-Parker agar**. Geneva: ISO, 1999.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 13366-2:2014 — milk — enumeration of somatic cells — Part 2: method by flow cytometry (reference method)**. Geneva: ISO, 2014.

JARA, M. C.; FREDIANI, A. V.; ZEHETMEYER, F. K.; BRUHN, F. R. P.; MÜLLER, M. R.; MILLER, R. G.; NASCENTE, P. D. S. Multidrug-resistant hospital bacteria: epidemiological factors and susceptibility profile. **Microbial Drug Resistance**, v. 27, p. 433–440, 2021. DOI: 10.1089/mdr.2019.0209.

KANDEEL, S. A.; MORIN, D. E.; CALLOWAY, C. D.; CONSTABLE, P. D. Association of California Mastitis Test scores with intramammary infection status in lactating dairy cows admitted to a veterinary teaching hospital. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, p. 497–505, 2018. DOI: 10.1111/jvim.14876.

KOMATSU, R. S.; RODRIGUES, M. A. M.; LORENO, W. B. N.; SANTOS, K. A. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo Minas frescal produzido em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 316–321, 2010. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/7159>. Acesso em 30 jan. 2026

KOWALSKI, A. P.; MABONI, G.; PIRES ESPINDOLA, J.; FOLETTO, A.; BANDEIRA, G.; PÖTTER, L.; BOTTON, S. A.; VARGAS, A. C. Temporal profile of antimicrobial resistance exhibited by strains of *Staphylococcus* spp. isolated from cases of bovine mastitis for 20 years (1992–2011). **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 1035–1041, 2015. DOI: 10.1590/0103-8478cr20140928.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution and epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, e00020-18, 2018. DOI: 10.1128/CMR.00020-18.

LEITE, Z. T. C.; VAITSMAN, D. S.; DUTRA, P. B. Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 876–880, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000400043.

LI, Y.; XIA, P.-F.; GENG, T.-T.; TU, Z.-Z.; ZHANG, Y.-B.; YU, H.-C.; ZHANG, J.-J.; GUO, K.; YANG, K.; LIU, G.; SHAN, Z.; PAN, A. Trends in self-reported adherence to healthy lifestyle behaviors among US adults, 1999 to March 2020. **JAMA Network Open**, v. 6, n. 7, e2323584, 2023. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2023.23584.

LIMA, G. C.; LOIKO, M. R.; CASARIN, L. S.; TONDO, E. C. Assessing the epidemiological data of *Staphylococcus aureus* food poisoning occurred in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 759–763, 2013. DOI: 10.1590/S1517-83822013005000063.

LIROT, H.; CRESPIAN, L.; GASQUI, P.; BARRY, S.; MASSEGLIA, S.; POUX, V.; BAILLY, X.; BOMPARD, A. Longitudinal analysis reveals transitions in pathogen profiles associated with mastitis in dairy cows. **Veterinary Research**, v. 56, art. 231, 2025. DOI: 10.1186/s13567-025-01665-y.

LOCATELLI, C.; GATTOLIN, S.; MONISTERO, V.; CASTIGLIONI, B.; MORONI, P.; ADDIS, M. F.; CREMONESI, P. *Staphylococcus aureus* coa gene sequence analysis can prevent misidentification of coagulase-negative strains and contribute to their control in dairy cow herds. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, art. 1120305, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1120305.

LOZANO, C.; GÓMEZ-SANZ, E.; BENITO, D.; ASPIROZ, C.; ZARAZAGA, M.; TORRES, C. *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 301, n. 6, p. 500–505, 2011. DOI: 10.1016/j.ijmm.2011.02.004.

LUBNA; HUSSAIN, T.; SHAMI, A.; RAFIQ, N.; KHAN, S.; KABIR, M.; KHAN, N. U.; KHATTAK, I.; KAMAL, M.; USMAN, T. Antimicrobial usage and detection of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*: methicillin- and tetracycline-resistant strains in raw milk of lactating dairy cattle. **Antibiotics**, v. 12, n. 4, art. 673, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12040673.

MARTINEAU, F.; PICARD, F. J.; GRENIER, L.; ROY, P. H.; OUELLETTE, M.; BERGERON, M. G. Multiplex PCR assays for the detection of clinically relevant antibiotic resistance genes in staphylococci isolated from patients infected after cardiac surgery. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, n. 4, p. 527–534, 2000. DOI: 10.1093/jac/46.4.527.

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; FILHO, E. S. A. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p. 181–187, 2010. DOI: 10.5216/cab.v11i1.5085.

McEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial resistance: a One Health perspective. **Microbiology Spectrum**, v. 6, ARBA-0009-2017, 2018. DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017.

MEÇAJ, R.; MUÇA, G.; KOLECI, X.; SULÇE, M.; TURMALAJ, L.; ZALLA, P.; KONI, A.; TAJAJ, M. Bovine environmental mastitis and their control: an overview. **International Journal of Agricultural and Bioscience**, v. 12, p. 216–221, 2023. DOI: 10.47248/journal.ijab/2023.067.

MEDINA, C.; MANRÍQUEZ, D.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, B. A.; PACHA, P. A.; VIDAL, J. M.; OLIVA, R.; LATORRE, A. A. Biofilm-forming ability of *Staphylococcus aureus* on materials commonly found in milking equipment surfaces. **Journal of Dairy Science**, v. 108, n. 4, p. 3382–3389, 2025. DOI: 10.3168/jds.2024-25416.

MOJA, L.; ZANICHELLI, V.; MERTZ, D.; GANDRA, S.; CAPPELLO, B.; COOKE, G. S.; CHUKI, P.; HARBARTH, S.; PULCINI, C.; MENDELSON, M.; TACCONELLI, E.; OMBAJO, L. A.; CHITATANGA, R.; ZENG, M.; IMI, M.; ELIAS, C.; ASHORN, P.; MARATA, A.; PAULIN, S.; MULLER, A.; AIDARA-KANE, A.; WI, T. E.; WERE, W. M.; TAYLER, E.; FIGUERAS, A.; DA SILVA, C. P.; VAN WEEZENBEEK, C.; MAGRINI, N.; SHARLAND, M.; HUTTNER, B.; LOEB, M. WHO's essential medicines and AWaRe: recommendations on first- and second-choice antibiotics for empiric treatment of clinical infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 30, Suppl. 2, p. S1–S51, 2024. DOI: 10.1016/j.cmi.2024.02.003.

MONISTERO, V.; BARBERIO, A.; BISCARINI, F.; CREMONESI, P.; CASTIGLIONI, B.; GRABER, H. U.; BOTTINI, E.; CEBALLOS-MARQUEZ, A.; KROEMKER, V.; PETZER, I. M.; POLLERA, C.; SANTISTEBAN, C.; SANTOS, M. V.; BRONZO, V.; PICCININI, R.; RE, G.; COCCHI, M.; MORONI, P. Different distribution of antimicrobial resistance genes and virulence profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical mastitis in six countries. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3431-3446, 2020. DOI: 10.3168/jds.2019-17141.

MORALES-UBALDO, A. L.; RIVERO-PEREZ, N.; VALLADARES-CARRANZA, B.; VELÁZQUEZ-ORDOÑEZ, V.; DELGADILLO-RUIZ, L.; ZARAGOZA-BASTIDA, A. Bovine mastitis, a worldwide impact disease: prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches. **Veterinary and Animal Science**, v. 21, p. 100306, 2023. DOI: 10.1016/j.vas.2023.100306.

MOREIRA, M. A. S.; COSTA, M. M.; SCHWARZ, D. G. G.; BRAGA, I. F. E.; CARVALHO, I. A.; MAGNA, C. L.; CALIMAN, S. L. C.; ALVES, T. C. S. Mastites em rebanhos leiteiros. In: NERO, L. A.; BERSOT, L. S.; COSTA, M. M. da (eds.). **Cadeias leiteiras no Brasil: produção, sanidade e processamento**. Viçosa: Editora UFV, 2024. p. 134–153.

MRAMBA, R. P.; MOHAMED, M. A. The prevalence and factors associated with mastitis in dairy cows kept by small-scale farmers in Dodoma, Tanzania. **Heliyon**, v. 10, e34122, 2024. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e34122.

NARVÁEZ-SEMANATE, J. L.; DAZA-BOLAÑOS, C. A.; VALENCIA-HOYOS, C. E.; HURTADO-GARZÓN, D. T.; ACOSTA-JURADO, D. C. Diagnostic methods of subclinical mastitis in bovine milk: an overview. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, Medellín, v. 75, n. 3, p. 10077-10088, 2022. DOI: 10.15446/rfnam.v75n3.100520

NOGARA, K. F.; BUSANELLO, M.; ZOPOLLATTO, M. Relationship between subclinical mastitis occurrence and pathogen prevalence in two different automatic milking systems. **Animals**, v. 15, art. 776, 2025. DOI: 10.3390/ani15060776.

OLIVEIRA, C. F. de; MOREY, A. T.; SANTOS, J. P.; PEREIRA GOMES, L. V.; CARDOSO, J. D.; PINGE-FILHO, P.; PERUGINI, M. R. E.; YAMAUCHI, L. M.; YAMADA-OGATTA, S. F. Molecular and phenotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospitalized patients. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 7, p. 743-751, 2015. DOI: 10.3855/jidc.5868.

OLIVEIRA, C. M. C.; SOUSA, M. G. S.; SILVA, N. S.; MENDONÇA, C. L.; SILVEIRA, J. A. S.; OAIGEN, R. P.; ANDRADE, S. J. T.; BARBOSA, J. D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 104-110, 2011. DOI: 10.1590/S0100-736X2011000200002.

PANKEY, J. W. Premilking udder hygiene. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 1308-1312, 1989. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79238-9.

PARDO, L.; MACHADO, V.; CUELLO, D.; AGUERREBERE, P.; SEIJA, V.; BRAGA, V.; VARELA, G. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes and their associated genotypes in *Staphylococcus aureus* isolates from a tertiary level public hospital of Uruguay. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 52, n. 3, p. 202-210, 2020. DOI: 10.1016/j.ram.2019.10.004.

PARTRIDGE, S. R.; KWONG, S. M.; FIRTH, N.; JENSEN, S. O. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, e00088-17, 2018. DOI: 10.1128/CMR.00088-17.

PISSETTI, C.; SILVA, A. P. S. P.; NETO, W. S.; COSTA, E. F. *Staphylococcus aureus* resistant to β -lactam antibiotics in mastitis dairy herds: a meta-analysis. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 772-788, 2021. DOI: 10.34188/bjaerv4n1-064.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S. **Microbiologia veterinária essencial**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

RAO, S.; LINKE, L.; MAGNUSON, R.; JAUCH, L.; HYATT, D. R. Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* collected from livestock, poultry and humans. **One Health**, v. 15, art. 100407, 2022. DOI: 10.1016/j.onehlt.2022.100407.

RAY, G. T.; SUAYA, J. A.; BAXTER, R. Incidence, microbiology, and patient characteristics of skin and soft-tissue infections in a U.S. population: a retrospective population-based study. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, art. 252, 2013. DOI: 10.1186/1471-2334-13-252.

RIBEIRO, M. G.; LAGONI, H.; DOMINGUES, P. F.; PANTOJA, J. C. F. Mastite em animais domésticos. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. (eds.). **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2020. p. 1154-1205.

RIBEIRO, M. C.; STELATO, M. M. **Microbiologia prática: aplicações de aprendizagem de microbiologia – bactérias, fungos e vírus**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

ROBLES-JIMENEZ, L. E.; ARANDA-AGUIRRE, E.; CASTELAN-ORTEGA, O. A.; SHETTINO-BERMÚDEZ, B. S.; ORTIZ-SALINAS, R.; *et al.* Worldwide traceability of antibiotic residues from livestock in wastewater and soil: a systematic review. **Animals**, v. 12, n. 1, p. 60, 2022. DOI: 10.3390/ani12010060.

RODRÍGUEZ, M. F.; GOMEZ, A. P.; CEBALLOS-GARZÓN, A. Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus* isolated from cows with subclinical mastitis. **Antibiotics**, v. 12, p. 1574, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12111574.

SADER, H. S.; SMART, J. I.; MENDES, R. E.; CASTANHEIRA, M.; *et al.* Ceftobiprole activity against multidrug-resistant clinical isolates collected in the United States from 2016 through 2022. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 69, n. 2, e01402-24, 2025. DOI: 10.1128/aac.01402-24.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Controle de mastite e qualidade do leite: desafios e soluções**. Pirassununga: Edição dos Autores, 2019.

SCHENKENFELDER, J.; WINCKLER, C. Animal welfare outcomes and associated risk indicators on Austrian dairy farms: a cross-sectional study. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 11091–11107, 2021. DOI: 10.3168/jds.2020-20085.

SELF, W. H.; WUNDERINK, R. G.; WILLIAMS, D. J.; ZHU, Y.; ANDERSON, E. J.; BALK, R. A.; *et al.* Staphylococcus aureus community-acquired pneumonia: prevalence, clinical characteristics, and outcomes. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, p. 300–309, 2016. DOI: 10.1093/cid/ciw300.

SEMENOVA, Y.; MAKALKINA, L.; GLUSHKOVA, N.; GAIPOV, A. Tetracyclines in the modern era: global consumption, antimicrobial resistance, environmental occurrence, and degradation techniques. **Antibiotics**, v. 14, n. 12, art. 1183, 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14121183.

SGRECCIA, E. **Manual de bioética I: fundamentos e ética biomédica**. São Paulo: Edições Loyola, 1988.

SILVA, A. T. F.; GONÇALVES, J. L.; DANTAS, S. T. A.; RALL, V. L. M.; OLIVEIRA, P. R. F.; SANTOS, M. V.; PEIXOTO, R. M.; MOTA, R. A. Genetic and phenotypic characterization of subclinical mastitis-causing multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 12, p. 1353, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12091353.

SILVA, A. T. F.; GONÇALVES, J. L.; SANTOS, M. V.; PEIXOTO, R. M.; CUE, R. I.; MOTA, R. A. Economic impact of staphylococcal and mammaliococcal subclinical mastitis in dairy herds from Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, p. 4167–4175, 2024. DOI: 10.1007/s42770-024-01548-y.

SILVA, J. R.; RIBEIRO, J. B.; SILVA, J. F. M.; DIAS, J. A.; RIBEIRO, G. R.; GONÇALVES, M. S.; *et al.* Molecular characterization and virulence factor profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazilian herds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 45, n. 3, p. 919–944, 2024. DOI: 10.5433/1679-0359.2024v45n3p919.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; GOMES, A. P. **Antimicrobianos: guia prático**. 2. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2010.

SMELTZER, M. S.; BEENKEN, K. E. Staphylococcus. In: McVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. (org.). **Microbiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 189–198.

SPINOSA, H. S.; TÁRRAGA, K. M. Considerações gerais sobre os antimicrobianos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 441-450.

^aSPINOSA, H. S. Antibióticos que interferem na síntese da parede celular: betalactâmicos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 480-488.

^bSPINOSA, H. S. Antibióticos que interferem na síntese de ácidos nucleicos (rifamicinas e novobiocina) e antibióticos bactericidas que interferem na síntese proteica (aminoglicosídeos). In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 494-502.

^cSPINOSA, H. S. Antibióticos bacteriostáticos que interferem na síntese proteica: macrolídeos, lincosamidas, pleuromutilinas, estreptograminas, tetraciclínas e amfenicóis. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 503-512.

^dSPINOSA, H. S. Antibióticos bacteriostáticos que interferem na síntese da parede celular (bacitracina, glicopeptídeos e fosfomicina) e na permeabilidade da membrana celular (polimixinas). In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 489-493.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2020.

TAVARES, A. B.; CAVALCANTI, E. A. N. L. D.; TIMM, C. D.; LIMA, H. G.; CERESER, N. D. Queijo artesanal produzido no sul do Rio Grande do Sul: avaliação físico-química, microbiológica e suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. 1-10, 2019. DOI: 10.1590/1089-6891v20e-47184.

TOMAZI, T.; SANTOS, M. V. Antimicrobial use for treatment of clinical mastitis in dairy herds from Brazil and its association with herd-level descriptors. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 176, art. 104937, 2020. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.104937.

UNGER, A. L.; COMERFORD, K. B.; BROWN, K.; LAMIN-BANGURA, K.; SLIMKO, M.; CIFELLI, C. J. Dairy foods support healthy dietary patterns and nutrition security in the United States: a nutrient adequacy and affordability perspective. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 9, art. 1669062, 2025. DOI: 10.3389/fsufs.2025.1669062.

VELASCO, V.; BUYUKCANGAZ, E.; SHERWOOD, J. S.; STEPAN, R. M.; KOSLOFSKY, R. J.; LOGUE, C. M. Characterization of *Staphylococcus aureus* from humans and a comparison with isolates of animal origin, in North Dakota, United States. **PLoS ONE**, v. 10, art. e0140497, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0140497.

VESTERGAARD, M.; FREES, D.; INGMER, H. Antibiotic resistance and the MRSA problem. **Microbiology Spectrum**, v. 7, GPP3-0057-2018, 2019. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018.

VIANA, F. A. B. **Guia terapêutico veterinário**. 4. ed. Lagoa Santa: Gráfica Editora Cem, 2019.

VIEIRA, J. C. S.; ARAÚJO, K. L.; SANTOS, A. C. N.; SÁ, H. S. T.; LEITE, A. E. L. M.; MENDONÇA, M.; SILVA, E. R. Prevalence of mastitis and characterization of bacterial agents isolated from dairy herds in the microregion of Garanhuns, state of Pernambuco, Brazil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 18, p. 44-52, 2024. DOI: 10.21708/avb.2024.18.1.11961.

VILELA, D.; RESENDE, J. C.; LEITE, J. B.; ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**, v. 26, n. 1, p. 5-24, 2017. Disponível em: <https://rpa.sede.embrapa.br/RPA/article/view/1243>.

VIRTO, M.; SANTAMARINA-GARCÍA, G.; AMORES, G.; HERNÁNDEZ, I. Antibiotics in dairy production: where is the problem? **Dairy**, v. 3, n. 3, p. 541–564, 2022. DOI: 10.3390/dairy3030039.

WANNMACHER, L. Sulfas, trimetoprim e anti-sépticos urinários. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 252–258.

WELDEGEBRIEL, M.; HAILU, K.; SEID, K.; NEGASH, L.; WELDU, Y.; FANTAY, H.; MEKONNEN, B.; ABEBE, N. Prevalence of *Mycobacterium bovis* infection and associated risk factors among dairy farm cattle in Mekelle and Wukro towns, Northern Ethiopia. **BMC Microbiology**, v. 25, art. 539, 2025. DOI: 10.1186/s12866-025-04267-y.

WENDLANDT, S.; FEßLER, A. T.; MONECKE, S.; EHRLICH, R.; SCHWARZ, S.; KADLEC, K. The diversity of antimicrobial resistance genes among staphylococci of animal origin. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, n. 6–7, p. 338–349, 2013. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO bacterial priority pathogens list: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance**. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Acesso em: 7 jan. 2026.

YANG, W.; CHEN, T.; ZHOU, Q.; XU, J. Resistance to linezolid in *Staphylococcus aureus* by mutation, modification, and acquisition of genes. **The Journal of Antibiotics**, v. 78, p. 4–13, 2025. DOI: 10.1038/s41429-024-00778-4.

ZEQUINÃO, T.; TELLES, J. P.; GAS PARETTO, J.; TUON, F. F. Carbapenem stewardship with ertapenem and antimicrobial resistance: a scoping review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, e20200413, 2020. DOI: 10.1590/0037-8682-0413-2020.

Anexos

Anexo A - Documento da Comissão de Ética para Uso de Animais – Coletas de amostras em bovinos de leite:

24/10/2024, 11:19

SEI/UFPEL - 2795884 - Parecer



PARECER Nº 140/2024/CEUA/REITORIA
PROCESSO Nº 23110.021682/2024-28

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "Microorganismos multi-resistentes aos antimicrobianos: similaridade entre isolados em humanos e animais", registrada com o nº 23110.021682/2024-28, sob a responsabilidade de **Patrícia da Silva Nascente e Helenice Gonzalez de Lima** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata e com as normas citadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas.

Finalidade	(x) Pesquisa	() Ensino
Vigência da autorização	Início: 01/10/2024	Término: 26/02/2026
Espécie/inhagem/raça	<i>Bos taurus taurus</i> / Jersey, Holandês e cruzas	
Nº de animais	4.000-5.000	
Idade	Qualquer idade	
Sexo	Fêmeas	
Origem	Propriedades rurais particulares localizadas na Zona Sul do Rio Grande do Sul.	

Código para cadastro nº CEUA 021682/2024-28

Priscila Marques Moura de Leon
Coordenadora da CEUA



Documento assinado eletronicamente por **PRISCILA MARQUES MOURA DE LEON**, Professor do Magistério Superior, em 21/10/2024, às 11:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2795884** e o código CRC **0F4C01CC**.

Referência: Processo nº 23110.021682/2024-28

SEI nº 2795884

**Anexo B – Documento Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos –
Formação do Banco de Isolados, onde foram buscados para este estudo.**

UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil de suscetibilidade de Bactérias Multirresistentes oriundas de dois Hospitais e Pelotas

Pesquisador: MARISA CASTRO JARA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 88857318.6.3001.5317

Instituição Proponente: HOSPITAL ESCOLA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.985.372

Apresentação do Projeto:

O aumento da resistência bacteriana a diferentes classes de antibióticos e a alta taxa de mortalidade tem impulsionado a corrida em busca de novos agentes antimicrobianos, principalmente os patógenos ESKAP (Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa e Enterobacter spp.), que são conhecidos por sua virulência e resistência a antibióticos existentes. As bactérias Gram-negativas têm causado grande preocupação pela produção de enzima betalactamase que inativa o antimicrobiano principalmente da classe dos Carbapenêmicos e Betalactamases de espectro estendido. As bactérias Gram-positivas como o S. aureus são resistentes a meticilina (MRSA) e a vancomicina, linezolida e a daptomicina; assim como Enterococcus spp., que tem mostrado resistência à linezolida, a daptomicina e a resistência aumentada do Enterococcus faecium a ampicilina e à vancomicina (VRE).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é analisar o perfil de suscetibilidade à antibióticos de bactérias oriundas de dois hospitais de Pelotas e testá-las frente a novos compostos de origem sintética.

Objetivos específicos

Endereço: Av Duque de Caxias 250

Bairro: Fragata

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

CEP: 96.030-001

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

Continuação do Parecer: 2.985.372

- (1) Levantar dados de suscetibilidade aos antimicrobianos de bactérias isoladas clinicamente de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), enfermarias, leitos particulares, ambulatorios e atendimento domiciliar em dois hospitais de Pelotas.
- (2) Identificar a prevalência das bactérias multirresistentes nos dois hospitais estudados.
- (3) Identificar os isolados bacterianos com maior resistência frente aos antibióticos utilizados atualmente.
- (4) Relacionar os isolados e o perfil de resistência com a origem clínica da amostra.
- (5) Mapear a frequência das bactérias Multirresistentes nas UTIs, enfermarias, leitos particulares, ambulatorios e atendimento domiciliar.
- (6) Verificar a suscetibilidade de bactérias multirresistentes frente a novos compostos de origem sintética.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não haverá risco aos pacientes, pois será cedida uma alíquota das culturas que serão auto-clavadas pelas instituições.

A pesquisa trará como benefício uma informação fundamental no estudo epidemiológico de doenças direcionadas a cidade de Pelotas e especificamente a cada hospital do estudo. Com este levantamento será apresentados o perfil de resistência de todas as bactérias de origem hospitalar com resistência a pelo menos três classes de antibióticos, proporcionando conhecimento e consequentemente meios de solucionar possíveis problemas. Os mesmos micro-organismos serão testados com novos fármacos para que novas alternativas de tratamento para enfermidades causadas por esses micro-organismos sejam investigadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os isolados bacterianos serão obtidos dos Laboratórios de Análises Clínicas dos Hospitais que serão nomeados como hospital A (Santa Casa de Misericórdia de Pelotas) e B (Hospital Escola-EBSERH); a partir das culturas de pacientes internados nas UTIs, enfermarias, leitos particulares, ambulatorios e atendimento domiciliar. O material biológico do paciente não será coletado especificamente para esse projeto. A coleta será realizada conforme solicitação de rotina e protocolo da instituição e necessidade. Após análise e estocagem ou incineração do material biológico do paciente pelo hospital, será solicitada a cedência de uma alíquota a instituição. As amostras bacterianas já isoladas e identificadas pelos serviços de cada um dos hospitais e cedidas por eles, passarão por uma seleção de acordo com perfil de suscetibilidade, onde serão utilizados apenas aqueles micro-organismos que apresentarem RESISTÊNCIA A PELO MENOS TRÊS CLASSES

Endereço: Av Duque de Caxias 250

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS



Continuação do Parecer: 2.985.372

DE ANTIBIÓTICOS NO ANTIBIOGRAMA. Os critérios de inclusão e exclusão serão direcionados aos micro-organismos e não aos pacientes, pois as amostras biológicas não serão identificadas e não existirão informações ou características dos pacientes e sim apenas o perfil de suscetibilidade das bactérias isoladas. Será verificada a frequência de resistentes e sensíveis de cada espécie bacteriana frente a cada antibiótico comparando os dois hospitais. As amostras serão estocadas no Laboratório de Microbiologia e Bioprospecção do DEMP – IB – Ufpel para posteriores testes com novos compostos de origem sintética.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Projeto propõe dispensa do TCLE, pois serão usadas alíquotas de amostras biológicas destinadas ao descarte por autoclavagem.

As cartas de autorização dos dois hospitais que participarão da pesquisa estão corretas e assinadas.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

OK

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_IH_2hosp_Pel_Par_Cons_v_3.pdf	09/10/2018 22:58:14	MARISA CASTRO JARA	Aceito
Outros	Carta_anuencia_HE_EBSERH_Nova.pdf	09/10/2018 22:56:20	MARISA CASTRO JARA	Aceito
Outros	Anexo_CLSI_M07_A9.pdf	02/07/2018 16:06:31	MARISA CASTRO JARA	Aceito
Outros	Carta_Autorizacao_Santa_Casa.pdf	01/05/2018 21:01:08	MARISA CASTRO JARA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av Duque de Caxias 250

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS



Continuação do Parecer: 2.985.372

PELOTAS, 27 de Outubro de 2018

Assinado por:
Patricia Abrantes Duval
(Coordenador(a))

Título da Pesquisa: Perfil de sensibilidade
de bactérias oriundas de dois hospitais em
Pelotas.

Pesquisador: MARISA CASTRO JARA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 05657316.0.0001.0017

Instituição Proponente: HOSPITAL ESCOLA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.985.372

Apresentação do Projeto

O aumento da resistência bacteriana a diferentes classes de antibióticos e a alta taxa de mortalidade em populações e comunidades locais em função de novas agentes antimicrobianos, principalmente os patógenos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*), que são conhecidos por sua virulência e resistência aos antibióticos e vacinas. As bactérias Gram-negativas têm causado grande preocupação pela produção de enzima beta-lactamase que inativa o ampicilina principalmente de classe dos *Carbapenems* e as *Bacteriostáticas* de espectro estendido. As bactérias Gram-positivas como o *S. aureus* são resistentes à meticilina (MRSA) e a vancomicina, *Saxofina* e a *clotrimazol*, assim como *Enterococcus spp.*, que tem mostrado resistência à ampicilina e a *clotrimazol* e a resistência aumentada do *Enterococcus faecium* a ampicilina e a vancomicina (VRE).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho é analisar o perfil de sensibilidade e resistência de bactérias oriundas de dois hospitais de Pelotas e isolá-las frente a novos compostos de origem sintética.

Objetivos específicos

Endereço: Av Duque de Caxias 250

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

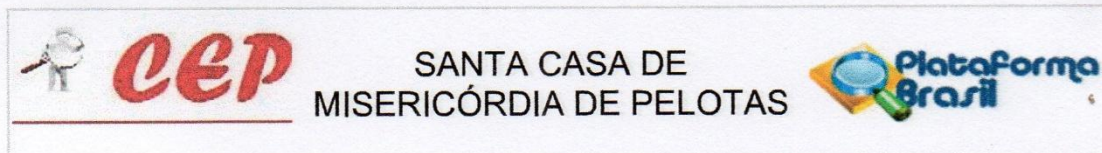
Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

Anexo C – Documento Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos – Formação do Banco de Isolados, onde foram buscados para este estudo.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil de suscetibilidade de Bactérias Multirresistentes oriundas de dois Hospitais em Pelotas

Pesquisador: MARISA CASTRO JARA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 88857318.6.0000.5337

Instituição Proponente: Santa Casa de Misericórdia de Pelotas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.961.379

Apresentação do Projeto:

Os agentes antimicrobianos descobertos em meados do século XX trouxeram a cura a de milhares de pessoas; no entanto, com a terapia abusiva de antibióticos na medicina humana, veterinária e na produção de alimentos têm aumentado a resistência dos patógenos aos antibióticos (Argudin et al., 2017; Macintyre & BUI, 2017). Com o declínio de descobertas de novas drogas antibióticas até os dias atuais em contrapartida com a evolução das bactérias Gram-negativas em adquirirem resistência a múltiplas classes de antimicrobianos por possuírem eficientes mecanismos disseminativos entre bactérias patogênicas e comensais da mesma ou de diferentes espécies, têm causado sérias preocupações de grande consequência para a saúde pública global (Mukerji et al., 2017). Outro grupo de bactérias, que têm apresentado constante resistência à drogas antimicrobianas de última geração são os cocos Gram-positivos, de grande preocupação na atualidade por promoverem infecções graves e letais, tais como pneumonia, meningite e infecções de pele (Bomfim, 2017). A resistência bacteriana aos antibióticos tem sido encontrada especialmente nos patógenos bacterianos ESKAPE (E. faecium, S. aureus, K. pneumoniae, A. baumannii, P. aeruginosa e Enterobacter spp.), os quais são os

Endereço: Praça Piratinino de Almeida, 53
Bairro: Centro
UF: RS **Município:** PELOTAS
Telefone: (53)3284-4700

CEP: 96.015-290

E-mail: cep@santacasadepelotas.com.br

**CEP****SANTA CASA DE
MISERICÓRDIA DE PELOTAS**

Continuação do Parecer: 2.961.379

principais causadores de infecções nosocomiais no mundo todo (Argudin et al., 2017). A mortalidade por bactérias Gram-negativas multirresistentes são causadas por infecções urinárias, infecções de sangue (sepse), pneumonia, meningite, diarreia, gonorréia, otite, infecções oculares, infecções ocasionadas pela utilização de cateter vascular central e infecções intra-abdominais ou feridas (Exner et al., 2017). Segundo divulgação de dados pela Organização Mundial da saúde (OMS), a aquisição de múltiplos genes, ocasionada pela propagação das bactérias, aponta que até 2050 as cepas resistentes poderão vitimar 10 milhões de pessoas por ano no mundo, superior ao número de mortalidade pelo câncer, estimado que atinja cerca de 8,2 milhões de pessoas ao ano (De Kraker et al., 2017). Apesar dessa expectativa de causar morbidade e mortalidade em todo o mundo num futuro não muito distante, é importante salvaguardar os antibióticos que necessitam de um gerenciamento e união entre os países abrangendo todos os setores que envolvem a saúde dos seres do planeta, pelo precário desenvolvimento de novos medicamentos (Brinkac et al., 2017). Da mesma forma, novos compostos devem ser estudados para que possam surgir novas alternativas terapêuticas acessíveis.

Objetivo da Pesquisa:**Objetivo Primário:**

O objetivo deste trabalho é analisar o perfil de suscetibilidade à antibióticos de bactérias oriundas de dois hospitais de Pelotas e testá-las frente a novos compostos de origem sintética.

Objetivo Secundário:

- (1) Levantar dados de suscetibilidade aos antimicrobianos de bactérias isoladas clinicamente de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), enfermarias, leitos particulares, ambulatórios e atendimento domiciliar em dois hospitais de Pelotas.
- (2) Identificar a prevalência das bactérias multirresistentes nos dois hospitais estudados.
- (3) Identificar os isolados bacterianos com maior resistência frente aos antibióticos utilizados atualmente.
- (4) Relacionar os isolados e o perfil de resistência com a origem clínica da amostra.
- (5) Mapear a frequência das bactérias Multirresistentes nas

Endereço: Praça Piratinino de Almeida, 53**Bairro:** Centro**UF:** RS**Município:** PELOTAS**Telefone:** (53)3284-4700**CEP:** 96.015-290**E-mail:** cep@santacasadepelotas.com.br

**CEP****SANTA CASA DE
MISERICÓRDIA DE PELOTAS**

Continuação do Parecer: 2.961.379

UTIs, enfermarias, leitos particulares, ambulatórios e atendimento domiciliar.

(6) Verificar a suscetibilidade de bactérias multiresistentes frente a novos compostos de origem sintética.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:**Riscos:**

Não haverá risco com o paciente, pois será cedida uma alíquota das culturas que serão autoclavadas pelas instituições hospitalares, e não terá

coleta direta de material do paciente. Visto que a coleta dos dados se dará pelo resultados dos laudos de antibiograma do paciente e as amostras

são cedidas. Após os dados obtidos serão divulgados como artigos em revistas assegurando que serão garantidas a confidencialidade dos dados e

a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos participantes da pesquisa e a garantia de manutenção do sigilo e da privacidade

dos participantes da pesquisa durante todas as fases da pesquisa de acordo com as normas da Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.i e IV.3.e.

Benefícios:

A pesquisa trará como benefício uma informação fundamental no estudo epidemiológico de doenças direcionados a cidade de Pelotas e

especificamente a cada hospital do estudo. Com este levantamento serão apresentados o perfil de resistência de todas bactérias de origem

hospitalar com resistência a pelo menos três classes de antibióticos, proporcionando conhecimento e consequentemente meios de solucionar

possíveis problemas. Os mesmos micro-organismos serão testados com novos fármacos para que novas alternativas de tratamento para

enfermidades causadas por esses micro-organismos sejam investigadas. Os resultados serão divulgados como artigos em revistas indexadas

trazendo novas perspectivas de tratamento minimizando a morbidade e mortalidade por bactérias multirresistentes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Ok.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Ok.

Endereço: Praça Piratinino de Almeida, 53**Bairro:** Centro**UF:** RS**Município:** PELOTAS**Telefone:** (53)3284-4700**CEP:** 96.015-290**E-mail:** cep@santacasadepelotas.com.br

**cep****SANTA CASA DE
MISERICÓRDIA DE PELOTAS**

Continuação do Parecer: 2.961.379

Recomendações:

Sugiro acrescentar alguns tópicos das "informações básicas" (que a pesquisadora colocou na Plataforma Brasil) dentro da versão do "Projeto Original" para que fiquem iguais, pois o projeto original ainda é a versão anterior.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Ok.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1087306.pdf	09/10/2018 22:59:46		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_IH_2hosp_Pel_Par_Cons_v_3.pdf	09/10/2018 22:58:14	MARISA CASTRO JARA	Aceito
Outros	Carta_anuencia_HE_EBSEH_Nova.pdf	09/10/2018 22:56:20	MARISA CASTRO JARA	Aceito
Outros	Anexo_CLSI_M07_A9.pdf	02/07/2018 16:06:31	MARISA CASTRO JARA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_Marisa.pdf	02/05/2018 23:18:00	MARISA CASTRO JARA	Aceito
Outros	Carta_Autorizacao_Santa_Casa.pdf	01/05/2018 21:01:08	MARISA CASTRO JARA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PELOTAS, 15 de Outubro de 2018

Assinado por:
DIONE LIMA BRAZ
(Coordenador(a))

Endereço: Praça Piratinino de Almeida, 53**Bairro:** Centro**UF:** RS**Município:** PELOTAS**Telefone:** (53)3284-4700**CEP:** 96.015-290**E-mail:** cep@santacasadepelotas.com.br

Anexo D – Comprovante de submissão do artigo 2.

5/02/2026, 15:58

Gmail - Submission Confirmation



Lucas Batista <ibatistasul@gmail.com>

Submission Confirmation

1 mensagem

BJMI - Editorial Office <em@editorialmanager.com>

16 de fevereiro de 2026 às 14:55

Responder a: BJMI - Editorial Office <narmadha.purusothaman@springer.com>

Para: Lucas Schaefer Batista <ibatistasul@gmail.com>

Dear Mr. Schaefer Batista,

Thank you for submitting your manuscript,
"EVOLUTION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN COAGULASE-POSITIVE STAPHYLOCOCCUS spp.
ASSOCIATED WITH BOVINE MASTITIS IN SOUTHERN RIO GRANDE DO SUL", to Brazilian Journal of
Microbiology

The submission id is: BJMI-D-26-00186

Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the journal's web site.

Your username is: ibatistasul

If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page at
<https://www.editorialmanager.com/bjmi/>.

With kind regards,

Journals Editorial Office BJMI
Springer

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/bjmi/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.