# PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DE QUEIJO DE LEITE CRU OVINO SUBMETIDO A REVESTIMENTO COM EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERDE

Eduan Junior Silveira Costa, Amanda Regina Ascari Brustolin, Charline Marchioro, Fernanda Picoli, Vitoria Martins Kracker, Denise Nunes Araujo, Lenita de Cassia Moura Stefani

## INTRODUÇÃO

Embora a cadeia produtiva do leite ovino ainda seja pouco expressiva no Brasil, o setor apresenta potencial de expansão, impulsionado pela produção de derivados de maior valor agregado e pelo crescimento do mercado consumidor (Bianchi et al., 2023). Nesse cenário, os queijos se destacam entre os principais derivados comercializados, indicando oportunidades para ampliação e diversificação do mercado de lácteos ovinos (Bianchi et al., 2023).

Os queijos elaborados com leite cru apresentam microbiota diversificada, que contribui para suas características sensoriais, mas também pode incluir microrganismos de importância sanitária. Entre eles, *Staphylococcus aureus* destaca-se pela capacidade de produzir enterotoxinas e pela ocorrência de cepas resistentes a antimicrobianos, constituindo uma preocupação para a segurança dos alimentos (Aguiar et al., 2024). Estudos realizados com queijos artesanais de leite cru no Brasil têm demonstrado a ocorrência de isolados de *S. aureus* resistentes e multirresistentes, evidenciando a importância do seu monitoramento na cadeia produtiva (Aguiar et al., 2024), a multirresistência (MDR) é caracterizada pela resistência a pelo menos um antimicrobiano de três ou mais classes distintas. Sua ocorrência é relevante por limitar as opções terapêuticas e favorecer a disseminação de determinantes de resistência na cadeia alimentar (Magiorakos et al., 2012).

Nesse contexto, a própolis verde apresenta potencial como alternativa natural para auxiliar no controle microbiológico. Sua composição inclui compostos bioativos como artepelin C, drupanina, caempferida e ácido p-cumárico, associados à atividade antibacteriana especialmente contra bactérias Gram-positivas, incluindo o *S. aureus* (Przybyłek; Karpiński, 2019). Esses compostos podem atuar por diferentes mecanismos, incluindo alterações na membrana celular e interferência em processos essenciais à sobrevivência bacteriana. Assim, o presente trabalho teve como objetivo determinar o perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *S. aureus* provenientes de queijo de leite cru ovino submetido a revestimento com extrato etanólico de própolis verde durante 60 dias de maturação.

## DESENVOLVIMENTO

O estudo foi conduzido no Laboratório de Biologia Molecular, Imunologia e Microbiologia (LABMIM) da UDESC-Oeste, Campus Chapecó, SC. Os queijos foram elaborados com leite cru de ovelhas da raça Lacaune, sem adição de culturas *starter*, sendo posteriormente divididos em grupo controle, sem revestimento, e grupo tratado, submetido à aplicação superficial de solução filmogênica contendo 10% (v/v) de extrato etanólico de própolis verde. O revestimento foi aplicado por banho superficial e, após a secagem, os queijos foram mantidos sob temperatura controlada durante 60 dias de maturação. Para obtenção dos isolados, amostras de 25 gramas foram coletadas de 10 queijos de cada grupo, após 7, 15,30 e 60 dias de maturação, onde foram submetidas à análise microbiológica em Ágar Sal Manitol, e as colônias características (colônias amareladas, circulares e convexas, com halo amarelo ao redor devido à fermentação do manitol) de *S. aureus* foram submetidas aos testes de catalase e coagulase (ASM, 2006). Os isolados foram submetidos ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco-difusão (CLSI, 2026). Os antibióticos utilizados foram: penicilina (PEN10), cefoxitina (CEF30), eritromicina (ERI15), tetraciclina (TET30), gentamicina (GEN10) e sulfametoxazol-trimetoprim (SUT25), sendo os isolados classificados quanto ao perfil

resistência aos antimicrobianos avaliados. A escolha dos antimicrobianos contemplou cinco classes distintas, permitindo caracterizar diferentes fenótipos de resistência em *Staphylococcus aureus*. PEN e CEF avaliaram resistência aos β-lactâmicos, enquanto ERI, TET, GEN e SXT ampliaram a investigação para outras classes. Esse painel possibilitou ainda a identificação de isolados multirresistentes (Aguiar et al., 2024; Magiorakos et al., 2012).

## RESULTADOS

Foram obtidos 12 isolados de *S. aureus*, sendo cinco provenientes do grupo controle e sete do grupo submetido ao revestimento contendo extrato etanólico de própolis verde. Considerando o conjunto dos isolados, seis (50,0%) apresentaram sensibilidade a todos os antimicrobianos avaliados. No grupo controle, dois dos cinco isolados (40,0%) foram sensíveis a todos os antimicrobianos, enquanto os demais apresentaram diferentes padrões de resistência. Destacaram-se os isolados obtidos aos 30 dias de maturação do grupo controle, onde um desses apresentou resistência aos seis antimicrobianos testados e o outro apresentou resistência à penicilina, cefoxitina, eritromicina, tetraciclina e sulfametoxazol-trimetoprim, também foi identificado, aos sete dias, desse mesmo grupo, um isolado com resistência à penicilina, cefoxitina, eritromicina e sulfametoxazol-trimetoprim (Tabela 1).

Entre os sete isolados provenientes do grupo tratado, quatro (57,1%) foram sensíveis a todos os antimicrobianos avaliados. Nos demais, a resistência ficou restrita à tetraciclina, à penicilina ou à associação desses dois antimicrobianos. Além disso, todos os isolados desse grupo foram sensíveis à cefoxitina, eritromicina, gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprim. Dessa forma, observou-se descritivamente menor diversidade de perfis de resistência entre os isolados provenientes dos queijos tratados quando comparados aos controles. A resistência à penicilina e à tetraciclina observada no presente estudo é relevante, uma vez que esses fenótipos também têm sido relatados em *S. aureus* isolados de queijos artesanais produzidos com leite cru. Aguiar et al. (2024), avaliando 57 isolados provenientes de queijo colonial artesanal do Sul do Brasil, verificaram resistência à penicilina em 33% e à tetraciclina em 23% dos isolados, além da ocorrência de cepas multirresistentes.

A menor amplitude de resistência observada entre os isolados recuperados do tratamento com própolis verde constitui um resultado de interesse, especialmente considerando a atividade antibacteriana descrita para esse produto natural frente a *S. aureus*. A própolis verde contém compostos bioativos, como artepillin C, drupanin, kaempferide e ácido *p*-cumárico, e extratos ricos nesses constituintes apresentam atividade contra *S. aureus*, inclusive cepas resistentes à meticilina (Przybyłek; Karpiński, 2019). A ação antibacteriana da própolis envolve diferentes mecanismos que podem comprometer estruturas e funções celulares bacterianas. Entretanto, os resultados do presente estudo não permitem afirmar que a exposição ao revestimento contendo própolis aumentou a sensibilidade dos isolados aos antibióticos, pois foram avaliados poucos isolados e não foi realizado acompanhamento da mesma cepa antes e após a exposição. Assim, a diferença observada entre os grupos deve ser considerada um achado descritivo, que justifica estudos posteriores com maior número de isolados e caracterização molecular dos determinantes de resistência.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização do perfil de resistência antimicrobiana demonstrou variabilidade entre os isolados de *S. aureus* provenientes dos queijos de leite cru ovino. Os perfis de maior resistência foram observados no grupo controle, incluindo isolados multirresistentes e um isolado resistente aos seis antimicrobianos testados, abrangendo as cinco classes avaliadas. Em contrapartida, entre os isolados provenientes dos queijos tratados com revestimento contendo extrato etanólico de própolis verde, predominou a sensibilidade, sendo a resistência restrita à penicilina e/ou tetraciclina, sem ocorrência de multirresistência.

A presença de isolados resistentes reforça a importância do monitoramento de *S. aureus* em produtos elaborados com leite cru, especialmente quanto à segurança microbiológica e à disseminação da resistência antimicrobiana na cadeia produtiva. A menor diversidade de perfis de resistência observada no grupo tratado constitui um achado relevante; entretanto, devido ao número limitado de isolados e ao caráter descritivo da avaliação, não é possível atribuir diretamente esse comportamento à ação da própolis verde. Estudos com maior número de isolados e caracterização molecular dos determinantes de resistência poderão contribuir para esclarecer essa possível relação e ampliar a compreensão sobre o potencial da própolis verde como estratégia complementar na conservação de queijos de leite cru.

**Palavras-chave:** multirresistência; própolis verde; queijo de leite cru; resistência antimicrobiana; *Staphylococcus aureus*.

## ANEXOS

**Tabela 1.** Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Staphylococcus aureus* provenientes de queijo de leite cru ovino dos grupos controle e tratado com revestimento contendo extrato etanólico de própolis verde durante a maturação.

| Grupo | Tempo (dias) | PEN | CEF | ERI | TET | GEN | SUT | Perfil |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Controle | 7 | R | R | R | S | S | R | PEN-CEF-ERI-SUT |
| Controle | 15 | S | S | S | S | S | S | |
| Controle | 15 | S | S | S | S | S | S | |
| Controle | 30 | R | R | R | R | R | R | PEN-CEF-ERI-TET-GEN-SUT |
| Controle | 30 | R | R | R | R | S | R | PEN-CEF-ERI-TET-SUT |
| Tratado | 7 | S | S | S | S | S | S | |
| Tratado | 15 | S | S | S | S | S | S | |
| Tratado | 15 | S | S | S | S | S | S | |
| Tratado | 30 | S | S | S | R | S | S | TET |
| Tratado | 30 | R | S | S | R | S | S | PEN-TET |
| Tratado | 60 | S | S | S | S | S | S | |
| Tratado | 60 | R | S | S | S | S | S | PEN |

*PEN = penicilina; CEF = cefoxitina; ERI = eritromicina; TET = tetraciclina; GEN = gentamicina; SUT = sulfametoxazol-trimetoprim; S = sensível; R = resistente; MDR = multirresistência, caracterizada pela resistência a antimicrobianos pertencentes a três ou mais classes.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, R. A. C. et al. *Staphylococcus aureus* isolated from traditional artisanal raw milk cheese from Southern Brazil: diversity, virulence, and antimicrobial resistance profile. *Journal of Food Protection*, v. 87, n. 6, art. 100285, 2024. DOI: 10.1016/j.jfp.2024.100285.

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY (ASM). *Mannitol Salt Agar Plates Protocols*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2006.

BIANCHI, A. E. et al. Strategic analysis of the sheep milk production chain in Brazil: an approach using the SWOT methodology. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 44, n. 3, p. 971–988, 2023. DOI:10.5433/1679-0359.2023v44n3p971.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 36. ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2026.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012. DOI:10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.

MORSY, M. K. et al. Propolis as natural preservative in dairy products. *Food and Nutrition Sciences*, v. 6, p. 879–891, 2015. DOI:10.4236/fns.2015.610092.

PRZYBYŁEK, I.; KARPIŃSKI, T. M. Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, v. 24, n. 11, art. 2047, 2019. DOI: 10.3390/molecules24112047.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 133, n. 2, p. 253–260, 2011. DOI: 10.1016/j.jep.2010.10.032.