

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Indicadores de higiene e distribuição de *Escherichia coli* na produção primária da cadeia produtiva do leite e avaliação de seus padrões de resistência a antibióticos

Mariana dos Santos Silva
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

MARIANA DOS SANTOS SILVA

Indicadores de higiene e distribuição de *Escherichia coli* na produção primária da cadeia produtiva do leite e avaliação de seus padrões de resistência a antibióticos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Luis Augusto Nero

Coorientadores: Antonio F. de Carvalho
Ricardo Seiti Yamatogi

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586i
2026

Silva, Mariana dos Santos, 1998-

Indicadores de higiene e distribuição de *Escherichia coli* na produção primária da cadeia produtiva do leite e avaliação de seus padrões de resistência a antibióticos / Mariana dos Santos Silva. – Viçosa, MG, 2026.

1 dissertação eletrônica (95 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Luis Augusto Nero.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, 2026.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.205>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Leite - Microbiologia. 2. *Escherichia coli*. 3. Leite - Contaminação. 4. Leite - Produção. 5. Bacteriologia veterinária. I. Nero, Luis Augusto, 1975-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 637.1277

MARIANA DOS SANTOS SILVA

Indicadores de higiene e distribuição de *Escherichia coli* na produção primária da cadeia produtiva do leite e avaliação de seus padrões de resistência a antibióticos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de janeiro de 2026.

Assentimento:

Mariana dos Santos Silva
Autora

Luis Augusto Nero
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 03/09/2026 às 23:38:17 e pelo orientador em 04/09/2026 às 08:10:12. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **R5O9.VGJ8.2I3C** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, por seu amor incondicional e por ter sido meu maior alicerce durante toda esta caminhada. Seu apoio e compreensão foram fundamentais para conclusão desta etapa, obrigada pela educação que me deu!

À minha família, por todo o carinho e boas energias. Em especial, ao meu avô Hamilton, que tem acreditado em mim desde a graduação e sempre me incentivou a construir meu próprio caminho e a seguir em busca dos meus sonhos.

Aos estagiários do laboratório, pelo auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho, em especial à Lívia, que me acompanhou em todas as rotinas de coleta, sempre com responsabilidade e dedicação.

Às pós-doutorandas Bruna Torres, Rafaela Rodrigues e Rafaela Tavares, pela constante disposição em auxiliar nas diferentes etapas deste trabalho. Aos colaboradores e ex-colaboradores do setor de Medicina Veterinária Preventiva, em especial ao Sr. Luís e Samuel. A todos os integrantes e colegas do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (InsPOA), pela convivência diária e pela colaboração constante.

Ao meu orientador, Prof. Luís Augusto Nero, pela paciência e pela contribuição com meu crescimento pessoal e científico.

Aos produtores rurais da região de Viçosa, que gentilmente abriram as portas de suas propriedades e se mostraram dispostos a colaborar com a pesquisa, demonstrando o valor da parceria entre a ciência e o campo.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Agradeço, portanto, a essas instituições pelo apoio e pelos recursos disponibilizados, que foram fundamentais para a viabilização e execução deste projeto.

À Neogen, pelo fornecimento de materiais essenciais para a realização das análises microbiológicas. E ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BioAgro), pelo suporte técnico e colaboração nas análises

dos perfis de resistência.

Por fim, agradeço a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a concretização deste trabalho. Cada gesto de apoio e palavras de incentivo foi essencial para que este momento se tornasse realidade.

“Torna-te aquilo que és”
Friedrich Nietzsche

RESUMO

SILVA, Mariana dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2026. **Indicadores de higiene e distribuição de *Escherichia coli* na produção primária da cadeia produtiva do leite e avaliação de seus padrões de resistência a antibióticos.** Orientador: Luis Augusto Nero. Coorientadores: Antonio Fernandes de Carvalho e Ricardo Seiti Yamatogi.

A resistência antimicrobiana representa uma ameaça crescente à saúde animal, humana e ambiental, e a cadeia produtiva do leite pode atuar como importante reservatório e via de disseminação de microrganismos resistentes. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar e comparar a distribuição de *Escherichia coli* e os padrões de resistência antimicrobiana de isolados obtidos na produção primária do leite em propriedades de diferentes portes produtivos. Foram avaliadas seis propriedades leiteiras da região de Viçosa, MG, classificadas como de pequena, média e alta produção, com três visitas a cada propriedade, totalizando 108 amostras. As coletas foram realizadas em diferentes pontos do sistema produtivo: leite do teto, leite do tanque, água limpa, água residual, swab do tanque e swab de teteiras. Também foi aplicado questionário para caracterização das propriedades quanto ao volume de produção, sistema de ordenha, manejo higiênico-sanitário e sanidade animal. As análises microbiológicas incluíram contagens de aeróbios mesófilos, Enterobacteriaceae, coliformes totais e *E. coli*. Os isolados confirmados de *E. coli* foram submetidos à avaliação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana pelo método de disco-difusão frente a 19 antimicrobianos, com investigação de multirresistência e produção de -lactamases de espectro estendido (ESBL). Das 108 amostras analisadas, 57 (52,8%) apresentaram isolamento positivo para *E. coli*, resultando em 180 isolados bacterianos. Desses, 43 (23,9%) foram classificados como multirresistentes, com maior frequência no leite do teto, seguido pela água residual e pelo leite do tanque. Sete isolados apresentaram fenótipo ESBL-positivo, todos provenientes de propriedades de alta produção. Observou-se maior frequência de resistência aos -lactâmicos, além de resistência relevante à tetraciclina e à azitromicina, enquanto gentamicina, norfloxacin e estreptomicina apresentaram maior eficácia. Os resultados demonstram que *E. coli* está amplamente distribuída em diferentes pontos da cadeia produtiva do leite e que a resistência antimicrobiana encontra-se estabelecida no ambiente de produção, reforçando a importância do monitoramento microbiológico e do uso racional de antimicrobianos na bovinocultura leiteira.

Palavras-chave: *Escherichia coli*; resistência antimicrobiana; ESBL; cadeia leiteira; Saúde Única

ABSTRACT

SILVA, Mariana dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2026. **Hygiene indicators and distribution of *Escherichia coli* in the primary production of the dairy production chain and evaluation of their antibiotic resistance patterns.** Adviser: Luis Augusto Nero. Co-advisers: Antonio Fernandes de Carvalho and Ricardo Seiti Yamatogi.

Antimicrobial resistance is an increasing threat to animal, human, and environmental health, and the dairy production chain may act as an important reservoir and route for the dissemination of resistant microorganisms. In this context, the present study aimed to evaluate and compare the distribution of *Escherichia coli* and the antimicrobial resistance profiles of isolates obtained from primary milk production systems of different production scales. Six dairy farms located in Viçosa, Minas Gerais, Brazil, classified as small, medium, and large-scale production, were evaluated, with three sampling visits per farm, totaling 108 samples. Sampling was carried out at different points of the production system, including teat milk, bulk tank milk, clean water, wastewater, tank swabs, and milking liner swabs. A questionnaire was also applied to characterize the farms regarding production volume, milking system, hygienic practices, and animal health management. Microbiological analyses included counts of aerobic mesophilic bacteria, Enterobacteriaceae, total coliforms, and *E. coli*. Confirmed *E. coli* isolates were subjected to antimicrobial susceptibility testing using the disk diffusion method against 19 antimicrobial agents, with evaluation of multidrug resistance and extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production. Of the 108 samples analyzed, 57 (52.8%) were positive for *E. coli*, resulting in 180 bacterial isolates. Among these, 43 (23.9%) were classified as multidrug-resistant, with higher frequency observed in teat milk, followed by wastewater and bulk tank milk. Three isolates were identified as ESBL producers, all from large-scale farms. Higher resistance frequencies were observed for β -lactams, as well as relevant resistance to tetracyclines and macrolides, whereas gentamicin, norfloxacin, and streptomycin showed higher effectiveness. These findings demonstrate that *E. coli* is widely distributed across different points of the dairy production chain and that antimicrobial resistance is established in the production environment, highlighting the importance of microbiological monitoring and rational antimicrobial use in dairy farming.

Keywords: *Escherichia coli*; antimicrobial resistance; ESBL; dairy production chain; One Health.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de aeróbios mesófilos categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p \leq 0,05$). 66

Figura 2. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de Enterobacteriaceae categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Letras minúsculas iguais indicam ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p > 0,05$). 67

Figura 3. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de coliformes categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p \leq 0,05$). 68

Figura 4. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de *E. coli* categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de

Kruskal-Wallis. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p \leq 0,05$). A= CAC/RCP 57-2004 e (CE) nº 2073/2005: ≤ 100 UFC/mL. C= Portaria GM/MS nº 888/2021: 0 UFC/100 mL...70

Figura 5. Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *E. coli* frente aos diferentes antibióticos testados, em propriedades de pequena, média e alta produção 72

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Antibióticos, concentrações (μg) dos discos e critérios de classificação para o teste de disco-difusão em <i>E. Coli</i>	53
Tabela 2. Contagens microbianas gerais por tipo de amostra coletada	60
Tabela 3. Contagens microbianas das amostras categorizadas por tamanho de propriedade	63

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	14
CAPÍTULO 1. Revisão bibliográfica	16
1.1 Importância econômica e nutricional do leite.....	17
1.2 Relevância da qualidade microbiológica do leite cru para a saúde pública.....	18
1.3 Papel do ambiente da ordenha na contaminação do leite.....	19
1.5 Resistência antimicrobiana: mecanismos e impacto	22
1.6 Principais antibióticos usados na pecuária leiteira e sua importância clínica.....	27
1.7 Multirresistência antimicrobiana (MDR) e produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL)	28
1.8 Relevância do monitoramento da resistência para saúde pública e manejo animal	30
2. Referências.....	32
OBJETIVOS	42
CAPÍTULO 2. Distribuição de <i>Escherichia coli</i> na produção primária da cadeia produtiva do leite e avaliação de seus padrões de resistência a antibióticos.....	43
Resumo	44
Abstract	45
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
2.1 Caracterização das propriedades leiteiras	47
2.2 Coleta de amostras	48
2.3 Análises Microbiológicas	49
2.4 Isolamento e identificação de <i>E. coli</i>	50
2.5 Determinação do perfil de resistência antimicrobiana	51
2.6 Análise de dados.....	54
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56

3.1 Caracterização das propriedades leiteiras avaliadas	56
3.2 Distribuição das contagens microbiológicas nas propriedades leiteiras	58
3.3 Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de <i>E. Coli</i>	70
3.4 Integração entre indicadores microbiológicos, resistência antimicrobiana e práticas de manejo nas propriedades leiteiras.....	78
4. CONCLUSÃO	82
AGRADECIMENTOS.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

INTRODUÇÃO GERAL

A pecuária leiteira desempenha papel importante na segurança alimentar global, fornecendo nutrientes essenciais para populações em diferentes contextos socioeconômicos (WHITE, 2023). Em 2022, a produção mundial de leite bovino — englobando leite de vacas e búfalas — atingiu aproximadamente 930 milhões de toneladas, representando um crescimento expressivo frente ao início do século XXI. Nesse contexto, o Brasil destacou-se como um dos maiores produtores mundiais, com produção em torno de 35,7 bilhões de litros de leite bovino (IBGE, 2022), correspondendo a cerca de 3% da produção global, sendo referência em volume, embora ainda enfrente desafios importantes relacionados à produtividade e à qualidade. (FAO, 2024).

No Brasil, a cadeia produtiva do leite está historicamente ligada à agricultura familiar, sendo caracterizada pela predominância de pequenas propriedades. Estima-se que cerca de 1,2 milhão de estabelecimentos rurais estejam envolvidos na atividade leiteira, dos quais aproximadamente 80% são classificados como de agricultura familiar (CONAB, 2021). Apesar dessa predominância em número de propriedades, a participação desses produtores no volume total produzido não é proporcional, refletindo diferenças de escala e produtividade entre os sistemas de produção já que uma grande parte dessas propriedades tem acesso restrito à assistência técnica e dificuldade na adoção de tecnologias na produção (ANDRADE et al. 2022; SILVA et al, 2024). Essa realidade contribui para a heterogeneidade dos sistemas produtivos e para desigualdades em termos de qualidade do leite, sanidade animal e práticas de manejo na pecuária leiteira brasileira, criando um ambiente propício à persistência de doenças além do uso indiscriminado de antimicrobianos (OLIVEIRA et al. 2021).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a resistência antimicrobiana (RAM) é considerada uma das maiores ameaças à saúde pública global (WHO, 2020). A RAM compromete a eficácia terapêutica e pode afetar a saúde humana e animal por meio de mecanismos de transmissão direta ou indireta (BOIREAU et al. 2018).

Embora no Brasil os dados sobre RAM em rebanhos leiteiros e no leite, ainda sejam escassos e fragmentados, já existem indícios de que a situação requer atenção (RABELLO, 2020). O uso frequente de antibióticos sem respaldo técnico na

produção animal, a ausência de registros sanitários, falta de conhecimento técnico para elaboração de protocolos de tratamento, negligência sobre o período de carência, entre outros fatores, são práticas comuns em muitas propriedades leiteiras. Essa realidade evidencia a necessidade de estratégias de vigilância microbiológica e da promoção da conscientização sobre o uso prudente de antimicrobianos no setor (ALMEIDA et al. 2021).

A cadeia leiteira apresenta microrganismos como *Escherichia coli* que contribuem com a temática de resistência antimicrobiana, esse microrganismo é considerado um modelo de estudo dentro dessa temática, pois contribui significativamente com a disseminação da resistência nos ambientes onde está inserido (YU et al. 2020). Nesses estudos, são comuns as investigações dos fatores que favorecem a disseminação, identificação dos principais antimicrobianos envolvidos, além da promoção de medidas de mitigação, considerando tanto a perspectiva da saúde animal quanto da saúde pública (HOELZER et al. 2017).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a distribuição de *E. coli* em diferentes locais em ambiente de produção leiteira e verificar seus padrões de resistência a antibióticos.

CAPÍTULO 1. Revisão bibliográfica

Mariana dos Santos Silva

1.1 Importância econômica e nutricional do leite

A cadeia láctea ocupa posição estratégica na economia agroalimentar, articulando geração de renda no campo, dinamização de mercados regionais e abastecimento contínuo de alimentos. Em 2024, por exemplo, a produção nacional de leite atingiu cerca de 35,7 bilhões de litros, confirmando a importância econômica do setor (IBGE, 2025). Esse volume gera impactos positivos em emprego, transporte, insumos e na indústria de laticínios, além de sustentar um setor lácteo diversificado, que vai do leite fluido até produtos de maior valor agregado, como queijos especiais, ingredientes e compostos bioativos (SILVA, DEMUNER, 2024).

No âmbito internacional, a pressão por eficiência e qualidade reforça essa dimensão econômica. O setor leiteiro responde à crescente demanda mundial por produtos lácteos de alta qualidade, associada à necessidade de tornar a produção mais eficiente. No contexto do agronegócio moderno, essas duas variáveis – qualidade e eficiência, condicionam a competitividade externa, a mitigação de custos logísticos e o posicionamento em nichos de maior valor, enquanto, internamente, contribuem para a estabilidade da oferta e a formação de preços ao consumidor (FIORILLO; AMICO, 2024).

A relevância econômica do leite está diretamente ligada à sua função nutricional como alimento básico. O avanço produtivo no setor, portanto, só tem sentido quando mantém e aprimora os atributos que garantem o valor dietético do produto, como o teor de proteínas de alto valor biológico, a composição lipídica, especialmente no que se refere a ácidos graxos com funções estruturais e metabólicas no organismo, a lactose como fonte de energia e a presença de diversos micronutrientes essenciais, como cálcio, fósforo e vitaminas do complexo B. Esses componentes não apenas promovem o crescimento e a manutenção do organismo, mas também desempenham papel importante na saúde óssea, na função imunológica e no desenvolvimento cognitivo (CIMMINO et al. 2023).

Dessa forma, a relação entre o valor econômico e o valor nutricional do leite exige um processo contínuo de aprimoramento, baseado em ciência, tecnologia e responsabilidade. Na prática, isso significa buscar maior eficiência produtiva respeitando o bem-estar animal e os princípios da sustentabilidade, além de não

comprometer os padrões higiênico-sanitários e as características sensoriais que determinam tanto a aceitação do consumidor quanto o valor agregado dos produtos lácteos, o que reforça a importância de indicadores de qualidade, como teor de proteínas e lipídios e outros como contagem de células somáticas e contagem padrão em placas, com parâmetros determinados pela legislação (MACHADO; PEREIRA; SARRÍES, 2018).

1.2 Relevância da qualidade microbiológica do leite cru para a saúde pública

A qualidade microbiológica do leite cru é um importante parâmetro de saúde pública, pois pode refletir o risco potencial de exposição a microrganismos patogênicos. Dessa forma, é um aspecto para garantia da segurança de alimentos, pois apesar de ser um dos alimentos mais completos nutricionalmente, ele também representa um substrato altamente favorável à multiplicação de microrganismos, o que o torna muito perecível. Essa combinação de elevado valor nutricional e condições propícias ao crescimento microbiano podem aumentar o risco de transmissão de patógenos e de multiplicação de microrganismos deteriorantes, que não causam doença, mas afetam a qualidade e estabilidade do produto, quando não são adotados controles higiênico-sanitários eficazes, desde a criação dos animais, até a ordenha e transporte para o processamento (MARTIN; EVANOWSKI; WIEDMANN, 2023).

No contexto brasileiro, a qualidade higiênico-sanitária do leite apresenta variabilidade entre sistemas produtivos, sendo observadas situações tanto de conformidade quanto de não conformidade com os padrões legais. Estudos recentes indicam a ocorrência de contagens bacterianas e de células somáticas acima dos limites estabelecidos pela legislação em determinadas propriedades e regiões, frequentemente associadas a falhas no manejo higiênico, transporte e sanidade do rebanho (ALBUQUERQUE et al. 2026; STRÖHER et al. 2023). A matéria-prima pode ser contaminada por falhas na higienização dos tetos, por resíduos de leite em utensílios e equipamentos, e ainda, ao longo do transporte. Em termos de saúde pública, esses fatores elevam a probabilidade de exposição da população a microrganismos patogênicos (BERGE; BAARS, 2020).

Do ponto de vista técnico, um dos principais parâmetros de qualidade é a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, que fornece uma visão ampla e confiável

do número total de bactérias presentes, permitindo estimar o grau de contaminação prévia do produto e inferir a qualidade higiênico-sanitária da sua produção. Complementarmente, a detecção de coliformes totais e termotolerantes, onde este último evidencia a presença de *E. coli*, constitui um sinal sensível do nível de higiene durante a produção e do potencial risco epidemiológico do leite cru (ZAFFALON et al. 2025).

1.3 Papel do ambiente da ordenha na contaminação do leite

A contaminação do leite cru tem origem multifatorial e se estrutura em pontos críticos distribuídos ao longo do ambiente de ordenha. Estudos como os de Miyoshi et al. mapeiam de forma sistemática esses pontos. Os autores definem, já no delineamento metodológico os principais pontos de contaminação microbiológica na ordenha: água utilizada, mãos do ordenhador, tetos dos animais, utensílios e equipamentos como os tanques de refrigeração (MIYOSHI et al. 2021). Esses pontos ajudam a distinguir fontes e rotas de veiculação, comparando contagens entre superfícies, água e matéria-prima, e inferindo onde intervenções de higiene e sanitização devem ser priorizadas.

A água é um insumo fundamental à limpeza do ambiente, de utensílios e de equipamentos e, por isso, sua avaliação microbiológica é indispensável. A água é qualificada ainda como um ponto crítico no processo de obtenção e refrigeração do leite, justifica-se, assim, a coleta e análise microbiológica da água, além de detectar falhas na potabilidade, esse dado esclarece contaminações por biofilmes em linhas de lavagem e tanques, com impacto direto sobre a carga inicial do leite e a recontaminação pós-limpeza (SILVA et al. 2018).

A superfície do teto constitui uma importante fonte potencial de contaminação microbiológica do leite, devido ao contato direto com o produto e à influência das práticas de higiene adotadas durante o preparo da ordenha. Dessa forma, a coleta de leite diretamente dos tetos das vacas é uma etapa fundamental para avaliar a qualidade microbiológica do leite cru, pois permite obter amostras representativas do leite antes de qualquer contato com o ambiente ou equipamentos, refletindo com maior precisão a carga bacteriana da glândula mamária e a higiene da ordenha (LU et al. 2025).

O mapeamento dos pontos críticos de contaminação possibilita identificar contaminações precoces e estabelecer um panorama confiável das condições sanitárias individuais de cada animal. Complementarmente, a adoção de práticas como *pré-dipping* e *pós-dipping*, que constitui-se na imersão dos tetos em soluções desinfetantes antes e após a ordenha contribui significativamente para a redução da contaminação microbiana, prevenindo infecções mamárias e garantindo maior qualidade do leite coletado, refletindo diretamente na segurança de alimentos e no rendimento industrial de produtos lácteos (LOCATELLI et al. 2023).

As superfícies em contato com o leite, sobretudo teteiras e tanques, são submetidas a protocolos de limpeza e uso de detergentes. O tipo de detergente, a concentração, o tempo de contato e a frequência de higienização influenciam diretamente a redução de carga microbiana, que podem atuar como reservatórios de bactérias contaminantes. Além disso, a sequência correta de limpeza com detergentes alcalinos seguida de ácidos, acompanhada de enxágue adequado e secagem, é fundamental, uma vez que os compostos alcalinos promovem a remoção de resíduos orgânicos, como gorduras e proteínas, permitindo a ação posterior dos detergentes ácidos na eliminação de depósitos minerais. Essa sequência contribui para a prevenção da formação de biofilmes e para a redução da carga microbiana, garantindo a segurança e a qualidade do leite. A amostragem é, portanto, essencial para validar Procedimentos Operacionais Padrão de higiene, identificar pontos de recontaminação e orientar a padronização de protocolos (temperatura, detergentes, sequência alcalino/ácido e secagem) (LAPOINTE et al. 2025).

O leite presente no tanque, que representa o produto final na fazenda, funciona como um integrador do risco microbiológico. A legislação estabelece 300 mil UFC/mL como limite máximo para a contagem de bactérias totais do leite cru (BRASIL, 2018). A amostra do tanque reflete a contribuição de todas as etapas da produção: água, mãos, tetos, equipamentos e utensílios. Por isso, coletar essa amostra equivale a ter uma “leitura-sentinela” do sistema, enquanto a comparação com outras matrizes ambientais ajuda a identificar a origem provável de possíveis desvios (TWOMEY et al. 2025). Assim, amostrar água, leite diretamente dos tetos, teteiras e tanque não é redundante, pelo contrário, é essencial para reconstituir a cadeia de contaminação, diferenciar fontes e avaliar o impacto de intervenções no ambiente de ordenha.

1.4 Microbiologia de *E. coli*

E. coli é uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, caracterizada por ser um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, não esporulado e geralmente móvel graças à presença de flagelos peritríquios. Trata-se de um microrganismo de vida livre, mas que também integra a microbiota intestinal de humanos e animais de sangue quente, desempenhando papel importante no equilíbrio do ecossistema intestinal. Contudo, determinadas linhagens podem adquirir características patogênicas, provocando infecções intestinais e extraintestinais, como infecções urinárias, meningites e quadros diarreicos. A transmissão dessas cepas patogênicas geralmente ocorre pela ingestão de água ou alimentos contaminados, o que as torna relevantes na ocorrência de infecções alimentares (BASAVARAJU; GUNASHREE, 2022).

Metabolicamente, *E. coli* possui a capacidade de fermentar diversos açúcares, como glicose e lactose, resultando na produção de ácidos e, por vezes, de gás, característica amplamente explorada em sua identificação laboratorial. Trata-se de um microrganismo com metabolismo altamente versátil, capaz de se multiplicar sob diferentes condições ambientais e de utilizar múltiplas fontes de carbono e energia. Essa adaptação explica sua ampla presença em ambientes aquáticos, alimentos e superfícies diversas (FÖRSTER; GESCHER, 2014).

E. coli pode apresentar diferentes cepas conforme sua capacidade de causar doenças, seja no intestino ou em outros locais do corpo, sendo que algumas dessas cepas apresentam grande relevância, como as enterohemorrágicas (EHEC), que produz a toxina *Shiga*, responsável por causar diarreia sanguinolenta e síndrome hemolítica urêmica (SHU). A contaminação por EHEC é frequentemente associada a alimentos crus ou mal cozidos, especialmente carne bovina, leite não pasteurizado e vegetais contaminados (WHO, 2018; ALHADLAQ et al. 2024).

Além disso, por sua natureza ubíqua, facilidade de isolamento e capacidade de adquirir e disseminar genes de resistência, essa espécie tem sido amplamente utilizada como modelo para monitorar padrões e perfis de resistência em diferentes fontes ambientais e alimentares. Estudos demonstram que *E. coli* isolada de leite e ambientes de fazendas leiteiras pode refletir tanto o uso de antimicrobianos no manejo

animal quanto a pressão seletiva exercida no ambiente produtivo, servindo como indicador precoce da presença de cepas resistentes que podem se disseminar entre animais, alimentos e humanos (VIJAY et al. 2025; VELOO et al. 2025).

No contexto da cadeia produtiva de leite, *E. coli* pode ser considerada uma preocupação, pois pode ser veiculada pelo leite especialmente quando não são observadas boas práticas de manejo sanitário e de ordenha (SINGHAL et al. 2020). A presença de *E. coli* em leite cru e em superfícies de contato está frequentemente associada a contaminação fecal decorrente de falhas higiênico-sanitárias no manejo animal, na ordenha e na higienização de equipamentos e utensílios, contribuindo, quando em níveis elevados, para a deterioração do leite e o comprometimento do seu beneficiamento industrial (ALMEIDA et al. 2022 ; VELOO et al. 2025).

Assim, o controle microbiológico de *E. coli* na cadeia produtiva de leite é essencial para garantir a segurança e a qualidade dos alimentos. Boas práticas agropecuárias, higienização adequada de equipamentos, refrigeração eficiente e monitoramento microbiológico contínuo são estratégias fundamentais para minimizar os riscos associados a esses microrganismos. Além disso, o desenvolvimento de tecnologias inovadoras e a conscientização dos produtores e consumidores são pilares importantes para enfrentar os desafios impostos pela presença desses microrganismos na produção de leite e derivados (NYOKABI et al. 2021).

1.5 Resistência antimicrobiana: mecanismos e impacto

A RAM ocorre quando microrganismos tornam-se capazes de sobreviver à ação de antimicrobianos previamente eficazes, comprometendo o tratamento de infecções e aumentando o risco de disseminação de doenças, de casos graves e de morte (WHO, 2021). Na perspectiva de Saúde Única, já não se trata de uma ameaça futura, mas de uma realidade alarmante, presente em todos os países, numa era pós-antibiótica onde infecções comuns e pequenos ferimentos podem voltar a matar (WHO, 2023).

Do ponto de vista microbiológico, a RAM emerge por dois caminhos principais: mutações genéticas e aquisição de DNA de outros microrganismos pela transferência horizontal de genes (THG). Esses processos sustentam mecanismos como

diminuição da entrada do antibiótico, aumento do efluxo, modificação ou proteção do alvo do fármaco e degradação enzimática do antimicrobiano. A combinação desses mecanismos permite que as bactérias sobrevivam, proliferem e propaguem a resistência (SILVEIRA et al. 2006).

Os mecanismos de resistência antimicrobiana podem ser classificados em quatro categorias principais: modificação do alvo do antimicrobiano, onde alterações estruturais impedem a ligação do fármaco; inativação ou modificação enzimática do antimicrobiano, como ocorre com a produção de beta-lactamases pelas bactérias que degradam antibióticos beta-lactâmicos; redução da permeabilidade da membrana celular ou alteração das bombas de efluxo, que expulsam o antimicrobiano antes que ele atinja seu alvo; e desenvolvimento de vias metabólicas alternativas que contornam o efeito do medicamento (REYGAERT, 2018).

A RAM pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é uma característica natural de alguns microrganismos a certos antimicrobianos. Isso pode ocorrer devido à impermeabilidade da membrana celular, que impede a entrada do medicamento, ou pela presença de bombas de efluxo, que eliminam o antimicrobiano antes que ele atinja concentrações letais. Além disso, alguns microrganismos não possuem alvo molecular específico para que o antimicrobiano tenha sido projetado, tornando-se naturalmente resistentes (IWU; PATRICK, 2021).

Por outro lado, a resistência adquirida ocorre quando microrganismos anteriormente suscetíveis desenvolvem ou adquirem mecanismos que neutralizam os efeitos dos antimicrobianos. Um dos mecanismos mais comuns é a alteração do alvo molecular, em que as bactérias modificam os locais onde os antimicrobianos atuam. Por exemplo, algumas cepas bacterianas resistentes podem alterar proteínas ligadas à penicilina ou produzir beta-lactamases, enzimas que degradam o anel beta-lactâmico presente em penicilinas e cefalosporinas, tornando esses fármacos ineficazes. Outro mecanismo envolve mutações em genes ribossomais, conferindo resistência a antimicrobianos que interferem na síntese de determinadas proteínas. Algumas bactérias também produzem enzimas que modificam quimicamente aminoglicosídeos, como a gentamicina, inativando-os por meio de processos como acetilação, fosforilação ou adenilação (REYGAERT, 2018; ASSEF et al. 2021).

A redução da permeabilidade celular é outro mecanismo comum. Em bactérias Gram-negativas, a alteração das porinas da membrana externa pode impedir a entrada de antimicrobianos, como os carbapenêmicos. Além disso, a superexpressão de bombas de efluxo, que expõem os antimicrobianos para fora da célula, é uma estratégia eficaz para reduzir a concentração intracelular do medicamento, contribuindo para a resistência a diferentes classes de antimicrobianos (URBAN-CHMIEL et al. 2022).

A formação de biofilmes é um mecanismo adicional que aumenta a resistência antimicrobiana. Os biofilmes são comunidades microbianas aderidas a superfícies e envoltas em uma matriz extracelular que dificulta a penetração de antimicrobianos. Sua formação ocorre por meio de um processo dinâmico que envolve a adesão inicial dos microrganismos à superfície, seguida da produção de substâncias poliméricas extracelulares, maturação da estrutura e eventual dispersão celular. Além disso, eles criam um ambiente favorável para a troca de genes de resistência entre os microrganismos, tornando as infecções associadas a biofilmes particularmente difíceis de tratar (LIU; PRENTICE; WEBBER, 2024).

A transferência horizontal de genes é um fator crítico na propagação da resistência antimicrobiana. Os microrganismos podem compartilhar genes de resistência por meio de três processos principais: transformação, transdução e conjugação. Na transformação, as bactérias absorvem DNA livre no ambiente. Na transdução, bacteriófagos transferem genes de resistência entre bactérias. Já na conjugação, plasmídeos contendo genes de resistência são transferidos diretamente entre células por meio de pili conjugativos (VINAYAMOHAN; PELLISSERY; VENKITANARAYANAN, 2022).

As mutações transmitidas também têm um papel importante no desenvolvimento da resistência, especialmente sob pressão seletiva causada pelo uso inadequado ou excessivo de antimicrobianos. Cepas resistentes são capazes de se multiplicar, resultando na disseminação da resistência (DAVIES; DAVIES, 2010).

A resistência cruzada ocorre quando a resistência a um antimicrobiano confere proteção contra outros da mesma classe. Por exemplo, alterações que afetam a girase ou a topoisomerase IV podem gerar resistência às fluoroquinolonas. A co-seleção

ocorre quando genes de resistência a diferentes antimicrobianos estão localizados no mesmo elemento genético móvel, como plasmídeos, fazendo com que a seleção por um antimicrobiano promova resistência a outros (MURRAY et al. 2024).

A identificação precoce de microrganismos resistentes é essencial para conter surtos e orientar tratamentos terapêuticos. Isso requer testes laboratoriais precisos, como antibiogramas e métodos moleculares para detecção de genes de resistência. A resistência antimicrobiana exige uma resposta coordenada globalmente, incluindo o uso racional de antimicrobianos, o fortalecimento das práticas de higiene e controle de infecções, além de investimentos em pesquisas que ampliam a compreensão dos mecanismos de resistência. Compreender esses mecanismos e implementar estratégias são passos cruciais para preservar a eficácia dos antimicrobianos e promover a saúde pública (WHO, 2015; RABELO et al. 2020).

Estima-se que, até 2050, infecções causadas por microrganismos resistentes a medicamentos possam causar até 10 milhões de mortes por ano globalmente, caso medidas eficazes não sejam tomadas (O'NEILL, 2014). No setor econômico, a resistência antimicrobiana impõe um enorme ônus financeiro, que são oriundos de internações prolongadas, uso de medicamentos e perda de produtividade (GANDRA; BARTER; LAXMINARAYAN, 2014).

Na produção de alimentos, incluindo a cadeia produtiva do leite, a resistência antimicrobiana representa um ponto crítico, pois o uso de antimicrobianos, por exemplo, no tratamento de mastites em vacas leiteiras pode levar à seleção de cepas resistentes como *E. coli*. O consumo desse alimento contaminado com bactérias resistentes pode transferir esses genes de resistência para o microbioma humano, reforçando a crise de saúde pública que envolve a disseminação de microrganismos resistentes a antimicrobianos entre humanos e animais (BARLOW, 2011).

Outro impacto importante é a presença de resíduos de antimicrobianos no leite e em derivados lácteos. O uso inadequado de antimicrobianos em bovinos leiteiros pode levar à presença de resíduos medicamentosos no leite, especialmente quando não são respeitados os períodos de carência após o tratamento. Esses compostos podem ser excretados no leite, uma vez que o tecido mamário constitui uma importante via de eliminação. Além dos riscos à saúde pública, a presença de

antimicrobianos interfere diretamente nos processos tecnológicos de produção de derivados lácteos, inibindo o crescimento de culturas fermentadoras e comprometendo ou até impedindo a elaboração de produtos como queijos e iogurtes. (GHIMPETEANU et al. 2022).

Entre os microrganismos de maior interesse para a cadeia do leite dentro deste contexto, destaca-se *E. coli*, sobretudo por seu papel em mastites, contaminação ambiental associada à bovinocultura leiteira e relevância clínica, além de apresentar perfis multirresistentes em cenários de pressão seletiva prolongada, com consequências diretas para a terapia, o descarte de leite e a segurança do consumidor (GOULART et al. 2022).

A resistência antimicrobiana na pecuária leiteira também tem implicações no comércio internacional. Muitos países possuem regulamentações rigorosas sobre os níveis máximos de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal, e a presença de resíduos acima desses limites pode levar à exclusão de lotes para exportação, prejudicando a competitividade dos produtores no mercado global e gerando impasses econômicos e diplomáticos. Além disso, surtos de doenças relacionadas ao consumo de produtos contaminados podem diminuir a confiança dos consumidores e gerar impactos econômicos negativos para a indústria e o país (GILBERT et al. 2021).

Do ponto de vista ambiental, o uso excessivo de antimicrobianos em bovinos pode resultar na liberação de resíduos no meio ambiente, seja por meio de resíduos da produção, como esterco, água e leite como até mesmo o descarte inadequado do medicamento, com seus frascos e embalagens. Esses resíduos contaminam solos e águas, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos resistentes e alterando o equilíbrio microbiano dos ecossistemas naturais. Como consequência, os genes de resistência podem ser transferidos nesses ambientes contribuindo para a disseminação da resistência entre bactérias presentes no solo e em mananciais de água, ampliando a problemática da resistência antimicrobiana no meio ambiente (GHIMPETEANU et al. 2022).

Para mitigar os impactos da resistência antimicrobiana na cadeia leiteira, diversas estratégias vêm sendo discutidas. Baseadas em uma abordagem em Saúde

Única, a adoção de boas práticas de manejo e biossegurança nas fazendas, visando a diminuição dos casos de infecções e, conseqüentemente, a necessidade do uso de antimicrobianos, são práticas importantes que contribuem significativamente para reduzir a disseminação da resistência a antimicrobianos. Isso inclui a higienização adequada durante a ordenha, a manutenção de um ambiente limpo, uso de água potável, adequada higienização de equipamentos e utensílios, adoção de boas práticas de manejo e ordenha, controle sanitário dos animais além de uma nutrição balanceada (NECULAI-VALEANU et al. 2024).

Outra medida essencial é o uso responsável e racional de antimicrobianos na produção leiteira. Isso envolve a prescrição e administração de medicamentos apenas quando necessário por profissional capacitado, com base em diagnóstico e exames complementares quando necessário. Além disso, respeitar a dosagem recomendada, duração do tratamento e período de carência são atitudes importantes para contribuir com a redução dessa problemática. O conhecimento de médicos veterinários e produtores sobre os riscos associados ao uso de antimicrobianos também é fundamental (IDF; WOA, 2025; EDA, 2016).

A melhoria de sistemas de monitoramento para rastrear o uso de medicamentos e a ocorrência de resistência, bem como a promoção de pesquisas voltadas ao desenvolvimento de alternativas ao uso de antimicrobianos, como vacinas e probióticos são estratégias importantes para auxiliar nesse controle (SILVA et al. 2023). A resistência antimicrobiana na cadeia leiteira é, portanto, um problema complexo e multifatorial, que requer a colaboração de diferentes setores, incluindo produtores, médicos veterinários, cientistas, governo e consumidores. Abordar esta questão de forma integrada é essencial para garantir a sustentabilidade da produção láctea, a segurança dos alimentos e a saúde pública (GARZON et al. 2023).

1.6 Principais antibióticos usados na pecuária leiteira e sua importância clínica

No âmbito da produção leiteira, o uso de antimicrobianos está principalmente associado ao tratamento de mastites e de outras infecções bacterianas que comprometem a saúde do rebanho. As classes de antibióticos mais empregadas em animais de produção enquadram-se, de modo geral, em seis grupos principais: beta-lactâmicos (como penicilinas e cefalosporinas), tetraciclina (como oxitetraciclina e

tetraciclina), aminoglicosídeos (como estreptomicina e gentamicina), macrolídeos (como eritromicina e azitromicina), sulfonamidas (como sulfametazina) e quinolonas (como enrofloxacina e ciprofloxacina) (TOMAZI; DOS SANTOS, 2020).

Sob a perspectiva clínica, os beta-lactâmicos representam uma das classes de antimicrobianos mais amplamente utilizadas na medicina veterinária, sendo provavelmente a principal escolha no tratamento de infecções bacterianas que acometem tanto bovinos de corte quanto de leite. Seu mecanismo de ação bactericida baseia-se na inibição da síntese de peptidoglicano, interferindo na formação da parede celular bacteriana durante a fase de crescimento (TOMAZI; DOS SANTOS, 2020).

As tetraciclinas, por sua vez, possuem amplo espectro e são amplamente utilizadas para tratar infecções bacterianas. Os aminoglicosídeos destacam-se pelo efeito bactericida contra Gram-negativas, embora seu uso deva considerar limitações toxicológicas. Entre os macrolídeos, a eritromicina é particularmente eficaz contra bactérias Gram-positivas, ainda que haja resistência em algumas cepas e efeitos colaterais relevantes. As sulfonamidas permanecem como opção de amplo uso histórico, enquanto as quinolonas derivam de núcleos estruturais com ação bactericida contra Gram-negativas, com representantes de uso veterinário como a enrofloxacina (TOMAZI; DOS SANTOS, 2020).

Na prática, a mastite constitui a principal condição clínica que leva ao uso de antimicrobianos em bovinos leiteiros e, conseqüentemente, representa uma das principais fontes de resíduos desses fármacos no leite. Entre os antibióticos mais utilizados para o tratamento da mastite destacam-se os beta-lactâmicos e a gentamicina (aminoglicosídeo). Em quadros graves, a combinação de terapia sistêmica e intramamária apresenta maior eficácia, aumentando a taxa de cura (MORALES-UBALDO et al. 2023).

1.7 Multirresistência antimicrobiana (MDR) e produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL)

A multirresistência antimicrobiana (multidrug resistance – MDR) é definida como a capacidade de um microrganismo apresentar resistência simultânea a três ou

mais classes distintas de antimicrobianos, configurando um cenário terapêutico mais complexo e limitando as opções de tratamento disponíveis. Esse fenômeno é resultado da pressão seletiva exercida pelo uso frequente e, muitas vezes, inadequado de antimicrobianos, favorecendo a sobrevivência e disseminação de cepas resistentes em ambientes clínicos, produtivos e ambientais (MAGIORAKOS et al. 2012).

No contexto da produção animal, especialmente na cadeia leiteira, a ocorrência de microrganismos MDR tem sido associada ao uso recorrente de antimicrobianos para o tratamento de enfermidades como a mastite bovina, bem como à ausência de protocolos terapêuticos baseados em diagnóstico microbiológico e testes de suscetibilidade. A presença de bactérias multirresistentes em ambientes de produção primária representa um risco não apenas à saúde animal, mas também à saúde pública, uma vez que esses microrganismos ou seus genes de resistência podem ser transferidos ao longo da cadeia alimentar e para o meio ambiente (VAN BOECKEL et al. 2019).

Entre os mecanismos de resistência de maior relevância epidemiológica destaca-se a produção de β -lactamases de espectro estendido (Extended-Spectrum β -Lactamases – ESBL). Essas enzimas conferem resistência a antibióticos β -lactâmicos de amplo espectro, especialmente cefalosporinas de terceira e quarta gerações, comprometendo fármacos considerados críticos para a medicina humana e veterinária. Microrganismos produtores de ESBL são frequentemente associados a falhas terapêuticas e maior persistência no ambiente (BUSH; JACOBY, 2010).

A produção de ESBL é particularmente preocupante em bactérias Gram-negativas, como *E. coli*, devido à elevada capacidade deste microrganismo de adquirir e disseminar genes de resistência por meio de plasmídeos e outros elementos genéticos móveis. As cepas produtoras de ESBL podem ser isoladas de leite cru, ambientes de ordenha, água e fezes de bovinos, evidenciando a ampla circulação desses microrganismos em sistemas de produção leiteira (LIVERMORE, 2012; MADEBO et al. 2023).

A detecção de bactérias MDR e produtoras de ESBL em propriedades leiteiras assume papel estratégico, pois esses ambientes funcionam como reservatórios e

pontos de amplificação da resistência antimicrobiana. Dessa forma, o monitoramento da ocorrência de microrganismos multirresistentes e produtores de ESBL na produção primária do leite é fundamental para subsidiar estratégias de controle, orientar o uso racional de antimicrobianos e reduzir o risco de disseminação da resistência ao longo da cadeia produtiva (ROCHA et al. 2020).

1.8 Relevância do monitoramento da resistência para saúde pública e manejo animal

O monitoramento da resistência aos antimicrobianos (RAM) é fundamental para proteger a saúde pública e orientar o manejo sanitário dos rebanhos. No contexto de saúde coletiva, os sistemas de vigilância são apresentados como um dos principais componentes essenciais para o controle da RAM, pois permitem acompanhar sua evolução ao longo do tempo e identificar o surgimento e a disseminação de perfis resistentes, subsidiando estratégias de controle e prevenção (DO et al. 2023).

O termo *surveillance* refere-se à vigilância sistemática, contínua e estruturada da resistência antimicrobiana em diferentes contextos — humanos, animais e ambientais — envolvendo não apenas a coleta de dados, mas também sua análise, interpretação e aplicação em políticas de controle. A Organização Mundial da Saúde (OMS), por meio do programa Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS), define essa abordagem como essencial para compreender a dinâmica da resistência e fundamentar decisões baseadas em evidências. Nesse contexto, destaca-se a abordagem integrada *One Health*, que considera as interconexões entre a saúde humana, animal e ambiental, reconhecendo o impacto do uso de antimicrobianos na produção animal sobre a resistência em patógenos humanos (WHO, 2023).

No plano das políticas públicas, o Plano de Ação Global da OMS (2015) é um marco na consolidação de estratégias para otimizar o uso de antimicrobianos na saúde humana e animal, enfatizando a necessidade de diagnósticos rápidos e de baixo custo. A World Organisation for Animal Health (WOAH), em 2016, complementou essas diretrizes ao propor o fortalecimento da vigilância e da pesquisa, incentivando a adoção de padrões internacionais de monitoramento. Considerando o caráter cumulativo da resistência, o monitoramento contínuo é essencial para detectar

mudanças nos padrões ao longo do tempo, justificando o investimento em programas sustentáveis de vigilância (VENKATESWARAN et al. 2024).

A implementação de programas de vigilância integrada da RAM é reconhecida como uma das medidas mais eficazes para prevenir e controlar a disseminação de microrganismos resistentes em sistemas agropecuários. No contexto da produção leiteira, a utilização de pontos sentinela — como o leite cru, a água utilizada na ordenha, os equipamentos (teteiras, tanques) e o ambiente de ordenha — permite detectar precocemente a presença de bactérias resistentes e identificar locais críticos de disseminação ao longo da cadeia produtiva, subsidiando intervenções específicas, como o aprimoramento das rotinas de higiene e o uso racional de antimicrobianos (NECULAI-VALEANU et al. 2024; VELLOO et al. 2025).

Nos programas de *surveillance* aplicados à produção animal, os pontos de coleta sentinela funcionam como indicadores do status sanitário da cadeia, permitindo correlacionar práticas de manejo com a presença e a propagação de resistência. Essa abordagem integra dados de origem animal, ambiental e humana, em consonância com o conceito de saúde única. Na cadeia leiteira, o monitoramento de isolados bacterianos provenientes de diferentes pontos do processo produtivo possibilita compreender a distribuição da resistência e identificar áreas de maior pressão seletiva (GILBERT et al. 2021; VENKATESWARAN et al. 2024).

Dessa forma, o monitoramento baseado em pontos-chave da produção mostra-se essencial para garantir a inocuidade dos alimentos e aprimorar as práticas de biossegurança e manejo racional de antimicrobianos, contribuindo para a formulação de políticas públicas e ações veterinárias baseadas em evidências (SHARMA, 2018; BRASIL, 2023).

2. Referências

ABUSHAHEEN, Manar Ali et al. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. **Disease-a-Month**, v. 66, n. 6, p. 100971, 2020. DOI: 10.1016/j.disamonth.2020.100971

ADAMSKI, Patryk et al. Prevalence and Antibiotic Resistance of Bacillus sp. Isolated from Raw Milk. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1065, 2023. DOI: 10.3390/microorganisms11041065

ALBUQUERQUE, Lethícia; GUIMARÃES, Lara; ACURCIO, Leonardo. Avaliação da Efetividade de Visitas Técnicas para Controle da Contagem de Células Somáticas (Ccs) e Contagem Padrão em Placas (Cpp) do Leite Captado por Laticínio na Região de Lagoa da Prata/Mg. **Revista Tópicos**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 30, p. 1-15, 2026. ISSN: 2965-6672.

ALHADLAQ, Meshari Ahmed et al. Overview of pathogenic Escherichia coli, with a focus on Shiga toxin-producing serotypes, global outbreaks (1982–2024) and food safety criteria. **Gut pathogens**, v. 16, n. 1, p. 57, 2024. DOI: 10.1186/s13099-024-00641-9

ALMEIDA, Í. C. et al. Economic Impact Of Bovine Mastitis In Espírito Santo, Brazil. **International Journal of Development Research**, v. 11, n. 2, p. 21065–21069, 2021. DOI: 10.37118/ijdr.21065.02.2021

ALMEIDA, Patrícia Veiga de et al. Isolation of Escherichia coli and Staphylococcus aureus in raw milk from refrigeration tanks: identification and antimicrobial resistance profiles. **Acta Vet. Brasilica**, p. 242-250, 2022.

ANDRADE, R. G. et al. **Evolução recente da produção e da produtividade leiteira no Brasil**. Embrapa, 2022. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1154296/1/Evolucao-recente-da-producao-e-da-produtividade-leiteira-no-Brasil.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2026.

ASSEF, M. E.; CARDOSO, R. F.; SOUZA, D. S.; PIGNATARI, A. C. C. Mecanismos de resistência a antimicrobianos. In: ASSEF, M. E. (org.). **Resistência aos**

antimicrobianos: um desafio global. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2021.p. 121–146. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/qhzxr/pdf/assef-9786557082331-07.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2026. DOI: 10.7476/9786557082331.0007.

BARLOW, John. Mastitis therapy and antimicrobial susceptibility: a multispecies review with a focus on antibiotic treatment of mastitis in dairy cattle. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 16, p. 383-407, 2011. DOI: 10.1007/s10911-011-9235-z

BASAVARAJU, M.; GUNASHREE, B. S. *Escherichia coli*: an overview of main characteristics. **Escherichia coli-Old and New Insights**, 2022. DOI: 10.5772/intechopen.95203

BEHERA, Bijayini et al. Evaluation of susceptibility testing methods for polymyxin. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 7, p. e596-e601, 2010. DOI: 10.1016/j.ijid.2009.09.001

BERGE, A. C.; BAARS, T. Raw milk producers with high levels of hygiene and safety. **Epidemiology & Infection**, v. 148, p. e14, 2020. DOI: 10.1017/S0950268820000060

BOIREAU, Clémence et al. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006–2016. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 10, p. 9451-9462, 2018. DOI: 10.3168/jds.2018-14835

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Ficam aprovados os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial [da] União**: Brasília - DF, ed. 230, seção 1, p.9, 30 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa de Vigilância e Monitoramento da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Agropecuária**. Brasília: MAPA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/pan-br-agro/ProgramadeVigilnciaeMonitoramentodaResistnciaaosAntimicrobianosnombitod>

aAgropecuaria.pdf/%40%40download/file. Acesso em: 12 jan. 2026.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of β -lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969–976, 2010. DOI:10.1128/AAC.01009-09

CIMMINO, F.; CATAPANO, A.; PETRELLA, L.; VILLANO, I.; TUDISCO, R.; CAVALIERE, G. Role of Milk Micronutrients in Human Health. **Frontiers in Bioscience (Landmark Ed.)**, v. 28, n. 2, p. 41-65, 2023. DOI: 10.31083/j.fbl2802041

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Boletim da Agricultura Familiar: cadeia produtiva do leite**. Brasília: Conab, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/conab/pt-br/assuntos/noticias/novo-boletim-da-agricultura-familiar-da-destaque-para-cadeia-produtiva-do-leite?utm_source=com. Acesso em: 12 mar. 2026.

DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 74, p. 417–433, 2010. DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.

DO, Phu Cong et al. Strengthening antimicrobial resistance surveillance systems: a scoping review. **BMC infectious diseases**, v. 23, n. 1, p. 593, 2023. DOI: 10.1186/s12879-023-08585-2

European Dairy Association (EDA). Statement on the Responsible Use of Antibiotics in Dairy Production. **Brussels: EDA**, 2016. Disponível em: https://eda.euromilk.org/wp-content/uploads/2016/06/EDA-16-5540-Hygiene_statement_on_antibiotic_use_in_Dairy.pdf. Acesso em: 2 jan. 2026.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Statistical Yearbook 2024** – World Food and Agriculture. Roma: FAO, 2022. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/2f9444ce-5979-4f61-9e65-68f7b6a8e37d/content>. Acesso em: 13 abril 2025.

FIORILLO, V.; AMICO, B. M. Milk Quality and Economic Sustainability in Dairy Farming: A Systematic Review of Performance Indicators. **Dairy**, v. 5, n. 3, p. 384-402, 2024. DOI: 10.3390/dairy5030031

FÖRSTER, Andreas H.; GESCHER, Johannes. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of mixed-acid fermentation end products. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 2, p. 16, 2014. DOI: 10.3389/fbioe.2014.00016

GANDRA, S.; BARTER, D. M.; LAXMINARAYAN, R. Economic burden of antibiotic resistance: how much do we really know? **Clinical microbiology and infection**, v. 20, n. 10, p. 973-980, 2014.

GARZON, Adriana et al. Antimicrobial stewardship on the dairy: Evaluating an on-farm framework for training farmworkers. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 6, p. 4171-4183, 2023. DOI: 10.3168/jds.2022-22560

GHIMPEȚEANU, Oana Mărgărita et al. Antibiotic use in livestock and residues in food— A public health threat: A review. **Foods**, v. 11, n. 10, p. 1430, 2022. DOI: 10.3390/foods11101430

GILBERT, William et al. Mitigating the risks posed by intensification in livestock production: the examples of antimicrobial resistance and zoonoses. **Animal**, v. 15, n. 2, p. 100123, 2021. DOI: 10.1016/j.animal.2020.100123

GOULART, Débora Brito; MELLATA, Melha. *Escherichia coli* mastitis in dairy cattle: etiology, diagnosis, and treatment challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 928346, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.928346

HOELZER, K. et al. Antimicrobial drug use in food-producing animals and associated human health risks: what, and how strong, is the evidence? **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 1–38, 2017. DOI: 10.1186/s12917-017-1131-3

HONORATO, L. A. et al. Strategies used by dairy family farmers in the south of Brazil to comply with organic regulations. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 3, p. 1319-1327, 2014. DOI: 10.3168/jds.2012-6532

IBGE. Produção Agropecuária: Leite. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>. Acesso em: 04/07/2025.

International Dairy Federation (IDF); World Organization for Animal Health (WOAH). Guide to Prudent Use of Antimicrobial Agents in Dairy Production 2.0. **Brussels: IDF**; Paris: WOA, 2025. Disponível em: <https://www.woah.org/app/uploads/2025/09/guide-to-prudent-use-of-antimicrobial-agents-in-dairy-production-idfwoah.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2026.

IWU, Chidozie Declan; PATRICK, Sean Mark. An insight into the implementation of the global action plan on antimicrobial resistance in the WHO African region: A roadmap for action. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 58, n. 4, p. 106411, 2021. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106411

LAPORTE, Gisèle et al. Biofilm Formation in Dairy: A Food Safety Concern-Microbial community tracking from dairy farm to factory; Insights on biofilm management for enhanced food safety and quality. **Journal of Dairy Science**, v. 108, n. 8, p. 8101-8119, 2025. DOI: 10.3168/jds.2024-25397

LIU, Ho Yu; PRENTICE, Emma L.; WEBBER, Mark A. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. **npj Antimicrobials and Resistance**, v. 2, n. 1, p. 27, 2024. DOI: 10.1038/s44259-024-00046-3

LIVERMORE, D. M. Current epidemiology and growing resistance of Gram-negative pathogens. **Korean Journal of Internal Medicine**, v. 27, n. 2, p. 128–142, 2012. DOI:10.3904/kjim.2012.27.2.128

LOCATELLI, Jaíne Fernanda Pires et al. Importância do pré-dipping e pós-dipping no controle da mastite bovina. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 12, p. 31100-31107, 2023. DOI: 10.34117/bjdv9n12-035

LU, Han et al. The Effects of Sampling Sites, Collection Time, and Refrigerated Storage Duration on Microbiota of Raw Milk From a Chinese Dairy Farm: An Exploratory Study. **Journal of Food Protection**, v. 88, n. 6, p. 100504, 2025. DOI: 10.1016/j.jfp.2025.100504

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES, G. A. Influence of milk production systems and practices on somatic cell count and total bacterial count in Western Paraná. **Brazilian Journal of Animal Science**, Viçosa, v. 47, e20170324, 2018. DOI:

10.1590/rbz4720170324

MADEBO, D. et al. Occurrence of ESBL-producing *Escherichia coli* in dairy farms and milk production environments: a systematic review. **Microbial Drug Resistance**, v. 29, n. 6, p. 624–636, 2023. DOI:10.1089/mdr.2022.0308

MARTIN, N. H.; EVANOWSKI, R. L.; WIEDMANN, M. Invited review: Redefining raw milk quality—Evaluation of raw milk microbiological parameters to ensure high-quality processed dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 3, p. 1502-1517, 2023. DOI: 10.3168/jds.2022-22416

MATA, Natalia Franco da; TOLEDO, Paula Spinha de; PAVIA, Paulo César. A importância da pasteurização: Comparação microbiológica entre leite cru e pasteurizado, do tipo B. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 384, p. 66-70, 2012. DOI: 10.5935/2238-6416.20120010

MIYOSHI, Luany Yone et al. Influência do grau de instrução dos produtores de leite, adequação das instalações e perfil produtivo na contaminação bacteriana do leite e ambiente de ordenha. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 76, n. 3, p. 142-156, 2021. DOI: 10.14295/2238-6416.v76i3.828

MORALES-UBALDO, Ana Lizet et al. 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

NYOKABI, Simon N. et al. Milk quality along dairy farming systems and associated value chains in Kenya: An analysis of composition, contamination and adulteration. **Food Control**, v. 119, p. 107482, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107482

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

MURRAY, Laura May et al. Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants. **Antimicrobials and Resistance**, v. 2, n. 1, p. 9, 2024. DOI: 10.1038/s44259-024-00026-7

NECULAI-VALEANU, Andra-Sabina et al. From herd health to public health: Digital tools for combating antibiotic resistance in dairy farms. **Antibiotics**, v. 13, n. 7, p. 634, 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13070634

OLIVEIRA, L. M. et al. Risk Factors Associated With Mastitis in Smallholder Dairy Farms in Southeast Brazil. **Frontiers in Veterinary Science**, [S.l.], v. 8, 2021. DOI: 10.3389/fvets.2021.689.

O'NEILL, J. Antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations (The Review on Antimicrobial Resistance, London, 2016, United Kingdom). **Rev. Antimicrob. Resist.** 2014. Disponível em: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf. Acesso em: 12 jan 2026

RABELLO RF, Bonelli RR; PENNA, BA; ALBUQUERQUE, JP; SOUZA, RM; CERQUEIRA, AMF. Antimicrobial Resistance in Farm Animals in Brazil: An Update Overview. **Animals (Basel)**. Mar 26;10(4):552, 2020. DOI: 10.3390/ani10040552.

REYGAERT, Wanda C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482, 2018.

ROCHA, D. A. et al. One Health perspective on antimicrobial resistance in food-producing animals. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, art. 2105, 2020. DOI:10.3389/fmicb.2020.02105

SHARMA, Chetan et al. Antimicrobial resistance: its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. **Frontiers in veterinary science**, v. 4, p. 237, 2018. DOI: 10.3389/fvets.2017.00237

SILVA, C. G. et al. Influência da sanificação da água e das práticas de ordenha na qualidade do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, p. 615-622, 2018. DOI: 10.1590/1678-4162-9466

SILVA, H. P; DEMUNER, L. F. Melhoramento genético de bovinos leiteiros: estudo das técnicas e impactos do melhoramento genético na produtividade e qualidade do leite. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, [S. l.], v. 10, n.

12, p. 988–1003, 2024. DOI: 10.51891/rease.v10i12.17335

SILVA, J. M. et al. Produção de leite na agricultura familiar: um estudo comparativo entre sistemas de produção. **Cadernos de Agroecologia**, ISSN 2236-7934 - Anais do XII Congresso Brasileiro de Agroecologia, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - v. 19, n. 1, 2024

SILVEIRA, Gustavo Pozza et al. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, p. 844-855, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000400037

SINGHAL, Poonam et al. Food safety issues associated with Milk: A review. **Safety Issues in Beverage Production**, p. 399-427, 2020. DOI: 10.1016/B978-0-12-816679-6.00012-7

STRÖHER, A. P. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru refrigerado no Brasil. **Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 10, e11064, 2023. DOI: <https://doi.org/10.17648/nutrivisa-2023v10e11064>

TISEO, Giusy et al. Diagnosis and management of infections caused by multidrug-resistant bacteria: guideline endorsed by the Italian Society of Infection and Tropical Diseases (SIMIT), the Italian Society of Anti-Infective Therapy (SITA), the Italian Group for Antimicrobial Stewardship (GISA), the Italian Association of Clinical Microbiologists (AMCLI) and the Italian Society of Microbiology (SIM). **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 60, n. 2, p. 106611, 2022. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2022.106611

TOMAZI, Tiago; DOS SANTOS, Marcos Veiga. Antimicrobial use for treatment of clinical mastitis in dairy herds from Brazil and its association with herd-level descriptors. **Preventive veterinary medicine**, v. 176, p. 104937, 2020. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.104937.

TWOMEY, L.; FUREY, A.; O'BRIEN, B.; BERESFORD, T.; GLEESON, D. Minimizing bacterial counts in bulk tank milk: A review with a focus on chlorine-free cleaning. **Dairy**, v. 6, n. 1, p. 7, 2025. DOI: 10.3390/dairy6010007

URBAN-CHMIEL, Renata et al. Antibiotic resistance in bacteria—A review.

Antibiotics, v. 11, n. 8, p. 1079, 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11081079

VAN BOECKEL, T. P. et al. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. **Science**, v. 365, n. 6459, eaaw1944, 2019. DOI:10.1126/science.aaw1944

VELOO, Yuvaneswary et al. Prevalence and Antimicrobial Resistance Patterns of *Escherichia Coli* in the Environment, Cow Dung, and Milk of Selangor Dairy Farms. **Antibiotics**, v. 14, n. 2, p. 137, 2025.

VENKATESWARAN, Narmada et al. Using priorities between human and livestock bacterial antimicrobial resistance (AMR) to identify data gaps in livestock AMR surveillance. **BMC Infectious Diseases**, v. 24, n. 1, p. 1027, 2024. DOI: 10.1186/s12879-024-09847-3

VINAYAMOHAN, Poonam G.; PELLISSERY, Abraham J.; VENKITANARAYANAN, Kumar. Role of horizontal gene transfer in the dissemination of antimicrobial resistance in food animal production. **Current Opinion in Food Science**, v. 47, p. 100882, 2022. DOI: 10.1016/j.cofs.2022.100882

VIJAY, Deepthi et al. Prevalence, antimicrobial resistance and biofilm forming ability of *Escherichia coli* in milk, animal handlers and slurry samples from dairy herds of Punjab, India. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12, p. 1553468, 2025. DOI: 10.3389/fvets.2025.1553468

WHITE, R. R.; GLEASON, C. B. Global contributions of milk to nutrient supplies and greenhouse gas emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 5, p. 3287-3300, 2023. DOI: 10.3168/jds.2022-22508

WHO – World Health Organization. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance.

Geneva: WHO, 2015. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>. Acesso em: 11 jan. 2026.

WHO - World Health Organization. *Escherichia coli*. **Geneva: WHO**, 2018. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>. Acesso em: 11 jan. 2026.

WHO – World Health Organization. Antimicrobial resistance: fact sheet. **Geneva:**

WHO, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 05 janeiro 2025.

WHO - World Health Organization. Antimicrobial resistance. *Fact sheet*. **Geneva:**

WHO, 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 10 jan. 2026.

WHO - World Health Organization. Antimicrobial resistance. **Geneva: WHO**, 2023.

Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 24 set. 2025.

YU, Z. N. et al. Prevalence and antimicrobial-resistance phenotypes and genotypes of *Escherichia coli* isolated from raw milk samples from mastitis cases in four regions of China. *Journal of global antimicrobial resistance*, v. 22, p. 94-101, 2020. DOI: 10.1016/j.jgar.2019.12.016

ZAFFALON, Gabriela Brocco et al. Assessment of microbiological and physicochemical quality of raw milk sold informally through social media. **Brazilian Animal Science**, v. 26, 2025. DOI: 10.1590/1809-6891v26e-82514E

ZHU, Ying; HUANG, Wei E.; YANG, Qiwen. Clinical perspective of antimicrobial resistance in bacteria. **Infection and drug resistance**, p. 735-746, 2022. DOI: 10.2147/IDR.S345574

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar e comparar a distribuição de *E. coli* e os padrões de resistência antimicrobiana dos isolados obtidos entre propriedades de portes produtivos diferentes (pequena, média e alta produção), bem como identificar possíveis fatores associados à ocorrência de microrganismos resistentes.

Objetivos Específicos

- A. Caracterizar as propriedades leiteiras avaliadas quanto ao volume de produção, sistema de ordenha, manejo higiênico-sanitário e aspectos relacionados à sanidade animal.
- B. Coletar e analisar amostras representativas da produção primária (leite cru, leite do tanque, água limpa, água residual, swab do tanque e swab de teteiras) para determinação da contagem de aeróbios mesófilos, enterobacterias, coliformes e detecção de *E. coli*.
- C. Determinar o perfil de resistência antimicrobiana dos isolados confirmados de *E. coli* por meio do método de disco-difusão, com base nos critérios do CLSI ,2024.
- D. Investigar a ocorrência de isolados multirresistentes (MDR) e avaliar possíveis associações entre a resistência antimicrobiana e volume total de produção das propriedades.

CAPÍTULO 2. Distribuição de *Escherichia coli* na produção primária da cadeia produtiva do leite e avaliação de seus padrões de resistência a antibióticos

Mariana dos Santos Silva

Resumo

A resistência antimicrobiana representa uma ameaça crescente à saúde animal, humana e ambiental, e a cadeia produtiva do leite pode atuar como importante reservatório e via de disseminação de microrganismos resistentes. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar e comparar a distribuição de *Escherichia coli* e os padrões de resistência antimicrobiana de isolados obtidos na produção primária do leite em propriedades de diferentes portes produtivos. Foram avaliadas seis propriedades leiteiras da região de Viçosa, MG, classificadas como de pequena, média e alta produção, com três visitas a cada propriedade, totalizando 108 amostras. As coletas foram realizadas em diferentes pontos do sistema produtivo: leite do teto, leite do tanque, água limpa, água residual, swab do tanque e swab de teteiras. Também foi aplicado questionário para caracterização das propriedades quanto ao volume de produção, sistema de ordenha, manejo higiênico-sanitário e sanidade animal. As análises microbiológicas incluíram contagens de aeróbios mesófilos, Enterobacteriaceae, coliformes totais e *E. coli*. Os isolados confirmados de *E. coli* foram submetidos à avaliação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana pelo método de disco-difusão frente a 19 antimicrobianos, com investigação de multirresistência e produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL). Das 108 amostras analisadas, 57 (52,8%) apresentaram isolamento positivo para *E. coli*, resultando em 180 isolados bacterianos. Desses, 43 (23,9%) foram classificados como multirresistentes, com maior frequência no leite do teto, seguido pela água residual e pelo leite do tanque. Sete isolados apresentaram fenótipo ESBL-positivo, todos provenientes de propriedades de alta produção. Observou-se maior frequência de resistência aos β -lactâmicos, além de resistência relevante à tetraciclina e à azitromicina, enquanto gentamicina, norfloxacin e estreptomicina apresentaram maior eficácia. Os resultados demonstram que *E. coli* está amplamente distribuída em diferentes pontos da cadeia produtiva do leite e que a resistência antimicrobiana encontra-se estabelecida no ambiente de produção, reforçando a importância do monitoramento microbiológico e do uso racional de antimicrobianos na bovinocultura leiteira.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, resistência antimicrobiana, ESBL, cadeia leiteira, Saúde Única.

Abstract

SILVA, Mariana dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2026.
Distribution of *Escherichia coli* in the primary production stage of the dairy supply chain and evaluation of its antibiotic resistance patterns. Advisor: Luís Augusto Nero.

Antimicrobial resistance is an increasing threat to animal, human, and environmental health, and the dairy production chain may act as an important reservoir and route for the dissemination of resistant microorganisms. In this context, the present study aimed to evaluate and compare the distribution of *Escherichia coli* and the antimicrobial resistance profiles of isolates obtained from primary milk production systems of different production scales. Six dairy farms located in Viçosa, Minas Gerais, Brazil, classified as small, medium, and large-scale production, were evaluated, with three sampling visits per farm, totaling 108 samples. Sampling was carried out at different points of the production system, including teat milk, bulk tank milk, clean water, wastewater, tank swabs, and milking liner swabs. A questionnaire was also applied to characterize the farms regarding production volume, milking system, hygienic practices, and animal health management. Microbiological analyses included counts of aerobic mesophilic bacteria, Enterobacteriaceae, total coliforms, and *E. coli*. Confirmed *E. coli* isolates were subjected to antimicrobial susceptibility testing using the disk diffusion method against 19 antimicrobial agents, with evaluation of multidrug resistance and extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production. Of the 108 samples analyzed, 57 (52.8%) were positive for *E. coli*, resulting in 180 bacterial isolates. Among these, 43 (23.9%) were classified as multidrug-resistant, with higher frequency observed in teat milk, followed by wastewater and bulk tank milk. Seven isolates were identified as ESBL producers, all from large-scale farms. Higher resistance frequencies were observed for β -lactams, as well as relevant resistance to tetracyclines and macrolides, whereas gentamicin, norfloxacin, and streptomycin showed higher effectiveness. These findings demonstrate that *E. coli* is widely distributed across different points of the dairy production chain and that antimicrobial resistance is established in the production environment, highlighting the importance of microbiological monitoring and rational antimicrobial use in dairy farming.

keywords: *Escherichia coli*, antimicrobial resistance, ESBL, dairy production chain, One Health.

1. INTRODUÇÃO

A resistência antimicrobiana (RAM) representa um dos maiores desafios sanitários da atualidade, sendo reconhecida como uma ameaça global à saúde animal, humana e ambiental, sobretudo quando bactérias de importância zoonótica desenvolvem mecanismos que reduzem a eficácia de antibióticos importantes para terapias clínicas e veterinárias (SAMTIYA et al. 2022; GARZÓN et al. 2024; VELOO et al. 2025). Dada a posição estratégica da cadeia produtiva do leite no fornecimento de alimentos nutritivos e seguros, a presença de microrganismos resistentes nesta cadeia pode impactar diretamente a qualidade da matéria-prima e a segurança de alimentos de origem animal (SAMTIYA et al. 2022).

No contexto agropecuário, o uso intensivo e, muitas vezes, inadequado de antimicrobianos em bovinos leiteiros contribui para a seleção de cepas resistentes, com potencial disseminação através dos animais, do ambiente e dos produtos alimentares (VELOO et al. 2025; SAMTIYA et al. 2022). Além disso, *E. coli* pode atuar como um indicador útil de contaminação e de resistência ambiental, uma vez que esta espécie frequentemente adquire genes de resistência por transferência horizontal e acumula perfis multirresistentes sob pressão seletiva de antimicrobianos (VIJAY et al. 2025; GARZÓN et al. 2024).

Embora no Brasil os dados sobre resistência antimicrobiana em rebanhos leiteiros e no leite ainda sejam escassos e fragmentados, evidências sugerem que a situação exige atenção e a construção de sistemas de vigilância mais robustos, uma vez que grande parte das informações disponíveis deriva de estudos isolados e revisões pontuais (KAPLAN et al. 2024). O entendimento da distribuição, da frequência de isolados resistentes e dos perfis fenotípicos de resistência é um componente essencial para a formulação de políticas eficientes de saúde pública e para o manejo prudente de antimicrobianos na cadeia leiteira (GARZÓN et al. 2024; VELOO et al. 2025).

Diante disso, este capítulo apresenta a avaliação da ocorrência de *E. coli* ao longo da cadeia produtiva do leite e o seu nível de contaminação, bem como a caracterização fenotípica dos isolados quanto à resistência a um painel de antimicrobianos. Busca-se fornecer subsídios para a compreensão da dinâmica de RAM em sistemas produtivos de leite, enfatizando as diferenças entre propriedades de variados portes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização das propriedades leiteiras

Foram selecionadas seis propriedades rurais localizadas na região de Viçosa-MG, sendo duas caracterizadas como de pequeno porte, duas como de média produção e duas como de alta produção. As categorias foram definidas de acordo com o volume de produção de leite: baixa produção (≤ 200 litros/dia), média produção (201 a 1200 litros/dia) e alta produção (> 1200 litros/dia). Em cada propriedade foram realizadas três visitas para coleta de dados e amostras, totalizando 18 coletas. Todos os responsáveis concordaram em participar voluntariamente da pesquisa, e a produção de leite de todas as propriedades tinha como destino o beneficiamento industrial.

Foi aplicado um questionário estruturado aos responsáveis pelas propriedades leiteiras, com o objetivo de caracterizar os sistemas produtivos, práticas de manejo e condições higiênico-sanitárias relacionadas à produção de leite. O instrumento contemplou informações sobre o perfil produtivo das propriedades, incluindo volume diário de leite produzido, número de animais em ordenha e produtividade média dos animais. Também foram coletados dados referentes ao sistema de criação e características do rebanho, como modelo de produção, base alimentar e raça predominante. No que se refere ao manejo de ordenha, o questionário abordou o tipo de ordenha utilizada, o sistema de resfriamento do leite e a adoção de práticas higiênicas, como realização de pré-dipping, pós-dipping e descarte dos primeiros jatos de leite.

Além disso, foram obtidas informações sobre o uso de antimicrobianos na propriedade, incluindo os principais fármacos utilizados, bem como o destino do leite produzido e do leite de descarte. O questionário também incluiu aspectos relacionados à higienização de utensílios, com identificação dos produtos utilizados, e à qualidade da água empregada na ordenha, abrangendo sua origem, possíveis tratamentos e o destino da água residual. As entrevistas foram conduzidas individualmente, em ambiente de rotina na fazenda, com registro das respostas realizado de forma manual em fichas impressas e, posteriormente, transcritas e organizadas em planilhas eletrônicas no software Microsoft Excel. As informações obtidas foram utilizadas para caracterização dos sistemas produtivos e para a identificação de possíveis fatores associados à ocorrência de microrganismos resistentes a antimicrobianos. O questionário completo encontra-se apresentado no Apêndice A.

As atividades descritas a seguir foram desenvolvidas após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (Processo 70/2023) e pela Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, vinculada à Plataforma Brasil (CAAE 78175924.3.0000.5153).

2.2 Coleta de amostras

Em cada visita foram coletadas seis amostras distintas, como segue a descrição abaixo:

1. Leite cru: obtido diretamente dos tetos dos animais, coletado de cinco animais diferentes, formando um *pool* com aproximadamente 20 mL de leite por animal e armazenado em frasco estéril de 100 mL.
2. Leite do tanque de expansão: obtido por coleta direta do leite armazenado no tanque de expansão, após homogeneização do conteúdo imediatamente antes da coleta, representando o leite da ordenha armazenado no momento da amostragem, todos em tanques individuais. A coleta foi realizada com auxílio de concha estéril, sendo coletados 100 mL de leite, armazenados em frasco estéril.
3. Água limpa do ambiente de produção: obtida através da coleta em torneiras e tubulações segundo a 21^a edição do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Hunt & Rice, 2005). Realizou-se higienização prévia (flambagem em torneiras metálicas ou limpeza com álcool 70% em torneiras plásticas), descartou-se os dois primeiros minutos de fluxo e coletou-se 100 mL de água em um frasco estéril.
4. Água residual do ambiente de produção: coletada com concha estéril diretamente das canaletas de escoamento, sendo coletados 100 mL de água residual e armazenados em frasco estéril.
5. Superfície interna do tanque de expansão: foram realizadas quatro repetições de amostragem utilizando moldes estéreis de 10 x 10 cm (100 cm²), totalizando 400 cm², com esfregaço realizado com swab estéril em um único sentido. Cada swab foi acondicionado em tubo estéril contendo 1 mL de água peptonada tamponada (BPW – Oxoid, Ltd., Basingstoke, Inglaterra).
6. Conjunto de teteiras: foi realizado swab estéril em um conjunto de teteiras selecionado aleatoriamente durante a ordenha. Para padronização da área

amostrada, as teteiras foram previamente seccionadas, permitindo a delimitação de uma área de 100 cm² por unidade. Considerando o conjunto composto por quatro teteiras, a área total amostrada foi de 400 cm². A coleta foi realizada por meio de esfregaço com swab estéril em toda a superfície interna delimitada. Cada swab foi acondicionado em tubo estéril contendo 1 mL de água peptonada tamponada

As amostras foram armazenadas em caixa isotérmica refrigerada logo após a coleta e encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (InsPOA, UFV, Viçosa, MG).

2.3 Análises Microbiológicas

As amostras cinco e seis obtidas por *swab* foram inicialmente homogeneizadas em equipamento tipo vórtex por 15 segundos para liberação das células bacterianas aderidas. Em seguida, os *swabs* foram removidos e adicionados 9 mL de solução salina peptonada a cada tubo, completando o volume total de cada amostra. Todo o conteúdo (quatro tubos por amostra) foi reunido em frasco estéril, totalizando 40 mL em cada amostra (1 mL = 10 cm²).

Para a realização das contagens microbiológicas, todas as amostras foram homogeneizadas e submetidas a diluições decimais seriadas em BPW. Foram selecionadas, para inoculação nas placas Petrifilm, a amostra integral e/ou diluições como 10⁻¹, 10⁻² e subsequentes, conforme necessário, visando obter contagens dentro da faixa recomendada para leitura.

O método de Petrifilm consiste basicamente, em preparação da amostra, inoculação de 1 mL da amostra nas placas, aplicação do difusor, incubação e leitura. Todos os procedimentos foram feitos de acordo com as recomendações do manual técnico do produto. Para todas as amostras, foram realizadas contagens para os seguintes grupos microbianos: aeróbios mesófilos, Enterobacteriaceae, coliformes totais e *E. Coli*.

As placas para contagem de aeróbios mesófilos foram incubadas a 32 °C por 48 horas, sendo a leitura oficial realizada ao final do período de incubação. Foram selecionadas para contagem placas com 25 a 250 colônias vermelhas, independente do tamanho ou intensidade da cor. Para análise de Enterobacteriaceae, as placas foram

incubadas a 37 °C, por 24 horas, sendo realizada leitura após o período de incubação. Para a leitura foram selecionadas placas com 15 a 100 colônias totais para a contagem das colônias típicas. Já para a contagem de Coliformes Totais e *E. coli*, a incubação foi realizada a 35 °C, sendo a leitura para contagem de colônias típicas de coliformes totais realizada após 24 horas de incubação. Para *E. coli*, as placas permaneceram incubadas por 48 horas, sendo a leitura realizada ao final desse período (SILVA, 2010).

2.4 Isolamento e identificação de *E. coli*

O isolamento de *E. coli* foi realizado por meio de pré-enriquecimento de todas as amostras, utilizando-se alíquotas de 25 mL da amostra em 225 mL de BPW. Para as amostras obtidas por swab, foi utilizada a suspensão inicial contida no tubo com BPW, previamente homogeneizada, sendo retirado volume equivalente a 25 mL para o pré-enriquecimento. A incubação ocorreu *overnight* a 37 °C. Após esse período, foi realizada semeadura por esgotamento em placas de ágar MacConkey (Oxoid), incubadas a 37 °C por 24 horas, e em seguida, analisadas quanto à presença de colônias com morfologia característica de Enterobacteriaceae, identificadas pela coloração vermelha decorrente da fermentação da lactose (lac+), comumente acompanhadas por uma zona de precipitação ao redor (SILVA, 2010).

O seguinte critério foi adotado para a seleção das colônias para isolamento: placas contendo apenas colônias lac+, foram selecionadas cinco colônias por amostra; em placas com colônias lac+ e lac-, foram escolhidas quatro colônias lac+ e uma colônia lac-; e, nas placas com apenas colônias lac-, foram selecionadas três colônias. As colônias selecionadas foram inoculadas diretamente em caldo Brain Heart Infusion (BHI, Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil), submetidas à homogeneização em vortex e incubadas a 35 °C por 24 horas, visando à multiplicação celular. Após o crescimento, os isolados foram armazenados em BHI acrescido de glicerol a 20% e mantidos a -20 °C para posterior análise.

Para realização da identificação bioquímica, os isolados foram recuperados a partir do estoque congelado, sendo novamente inoculados em caldo BHI e incubados a 35 °C por 24 horas para reativação celular. Os testes bioquímicos foram realizados a partir dessas culturas reativadas, utilizando os meios citrato de Simmons, MILi (motilidade, indol e lisina) e EPM (Escola Paulista de Medicina), conforme recomendações descritas por Koneman (2018). Os perfis esperados para confirmação

de *E. coli* incluíram: citrato (negativo), H₂S (negativo), indol (positivo), lisina (variável), motilidade (variável), triptofano (variável) e ureia (negativo). Todos os meios foram incubados a 37 °C por 24 horas.

2.5 Determinação do perfil de resistência antimicrobiana

Os isolados bioquimicamente confirmados como *E.coli* foram em seguida submetidos ao teste de disco-difusão para avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos selecionados. As culturas foram preparadas a partir de isolados previamente reativados em caldo BHI, sendo transferidas para caldo Mueller-Hinton (MH – Oxoid, Ltd., Basingstoke, Inglaterra) até obtenção de uma suspensão bacteriana com turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland, ajustada visualmente. A suspensão foi obtida por adição gradual da cultura bacteriana ao meio, sob homogeneização, até atingir a turbidez desejada. A padronização da turbidez corresponde a uma concentração aproximada de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, conforme recomendado para testes de suscetibilidade antimicrobiana.

A inoculação foi realizada em placa de petri preparada com 50 mL de MH ágar. Através de *swab* estéril foi plaqueado o caldo padronizado de cada isolado com movimentos em três direções (horizontal, vertical e diagonal), assegurando cobertura uniforme da superfície do ágar. Em cada placa foram aplicados 10 discos de antibióticos, totalizando duas placas por isolado. As placas foram incubadas a 37 °C por 18 horas

Em seguida, os diâmetros dos halos de inibição foram determinados por mensuração direta em milímetros (mm) utilizando régua milimetrada, adotando-se o mesmo instrumento de medida para todas as leituras, a fim de padronizar o procedimento. Os valores dos diâmetros foram registrados em planilha eletrônica e posteriormente utilizados para a interpretação do perfil de suscetibilidade. A interpretação dos halos (classificação em Sensível – S, Intermediário – I e Resistente – R) foi realizada com base em *breakpoints* recomendados pelo CLSI, de acordo com o documento vigente no período de experimento (CLSI, 2024).

Os antimicrobianos avaliados foram selecionados com base no perfil de uso relatado pelos produtores rurais no questionário aplicado, aliado à frequência de utilização desses fármacos na clínica veterinária para o tratamento de mastite bovina. A escolha contemplou diferentes classes antimicrobianas, de modo a refletir a realidade

da produção leiteira e possibilitar a avaliação de padrões de resistência com relevância clínica, produtiva e em saúde pública. O painel de 19 antibióticos utilizados, bem como as respectivas concentrações e critérios de sensibilidade, estão descritos na tabela abaixo.

Tabela 1 - Antibióticos, concentrações (μg) dos discos e critérios de classificação para o teste de disco-difusão em *E. coli*.

Antibióticos	Concentração	Classificação*		
		S	I	R
Amoxicilina (AMO)	10 mcg	≥ 17	14-16	≤ 13
Ampicilina (AMP)	10 mcg	≥ 17	14-16	≤ 13
Azitromicina (AZI)	15 mcg	≥ 13	-	≤ 12
Cefepima (CPM)	30 mcg	≥ 25	19-24	≤ 18
Cefotaxima (CTX)	30 mcg	≥ 26	23-25	≤ 22
Ceftazidima (CAZ)	30 mcg	≥ 21	18-20	≤ 17
Ceftriaxona (CRO)	30 mcg	≥ 23	20-22	≤ 19
Cefaclor (CFC)	30 mcg	≥ 18	15-17	≤ 14
Ciprofloxacino (CIP)	5 mcg	≥ 26	22-25	≤ 21
Cloranfenicol (CLO)	30 mcg	≥ 18	13-17	≤ 12
Doxiciclina (DOX)	30 mcg	≥ 14	11-13	≤ 10
Estreptomicina (EST)	10 mcg	≥ 15	12-14	≤ 11
Gentamicina (GEN)	10 mcg	≥ 18	15-17	≤ 14
Imipenem (IPM)	10 mcg	≥ 23	20-22	≤ 19
Meropenem (MPM)	10 mcg	≥ 23	20-22	≤ 19
Norfloxacino (NOR)	10 mcg	≥ 17	13-16	≤ 12
Sulfazotrim (SUT)	25 mcg	≥ 16	11-15	≤ 10
Tetraciclina (TET)	30 mcg	≥ 15	12-14	≤ 11

Polimixina P (POL)**	300 UI	≥12	-	≤11
----------------------	--------	-----	---	-----

*Resistente (R), intermediário (I) ou susceptível (S) de acordo com as recomendações do CLSI, 2024.

**Critérios de classificação estabelecidos de acordo com BEHERA, 2010.

A cepa *E. coli* ATCC 25922 foi utilizada como controle negativo dos testes, sendo considerada suscetível a todos os antimicrobianos avaliados. Isolados com resistência a três ou mais classes de antimicrobianos foram considerados multidroga resistente nesse estudo (BAE et al. 2005).

A partir das interpretações de suscetibilidade antimicrobiana (S/I/R), os isolados foram caracterizados quanto à resistência a pelo menos um antimicrobiano, definida pela presença de classificação “R” em um ou mais fármacos do painel avaliado, e quanto à multirresistência (MDR), definida como resistência a três ou mais classes de antimicrobianos, considerando as classes representadas no painel testado (MAGIORALOS et al. 2012).

A investigação fenotípica da produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) foi realizada por meio do teste de sinergismo por difusão em disco (double disk synergy test – DDST). Após a padronização da suspensão bacteriana (0,5 McFarland), os isolados foram semeados em placas contendo MH ágar, seguido da aplicação de um disco de amoxicilina associada ao ácido clavulânico (AMC) e discos de cefalosporinas posicionados a uma distância adequada entre si.

As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 18 a 24 horas, sendo a interpretação realizada pela observação do efeito de sinergismo entre os discos, caracterizado pelo alargamento ou distorção do halo de inibição em direção ao disco contendo o inibidor, fenômeno descrito como “zona fantasma” ou efeito *keyhole*. Isolados que apresentaram esse padrão foram classificados como ESBL-positivos (KAUR et al. 2013).

Com base nos resultados do perfil de resistência antimicrobiana, procedeu-se à análise da distribuição da ocorrência de isolados resistentes, multirresistentes (MDR) e produtores de ESBL, considerando características relacionadas à propriedade, manejo, produção, higiene da ordenha e sanidade animal, conforme as informações obtidas por meio do questionário aplicado aos produtores, com o objetivo de identificar padrões de ocorrência ao longo da produção primária do leite.

2.6 Análise de dados

Os dados laboratoriais e as informações obtidas por meio do questionário foram inicialmente organizados e consolidados em planilhas do Microsoft Excel, identificadas por propriedade, coleta e tipo de amostra. O cruzamento entre os resultados microbiológicos e as variáveis do questionário foi realizado por meio de filtros e chaves de identificação, permitindo a estratificação dos dados conforme as características da produção. Após essa etapa de organização e validação, o banco de dados foi exportado para o software R para análises estatísticas e elaboração das representações gráficas.

A ocorrência de aeróbios mesófilos, Enterobacteriaceae, coliformes totais e *E. coli* foi determinada a partir da presença de crescimento detectável nas amostras analisadas. A distribuição das contagens foi descrita de forma estratificada por tipo de amostra (leite cru dos tetos, leite do tanque, água limpa, água residual, swab do tanque e swab de teteiras), por propriedade e por coleta. As contagens foram expressas em UFC/mL ou UFC/cm², conforme o tipo de amostra, e apresentadas na forma de valores absolutos, bem como por meio de representações gráficas, visando à caracterização do comportamento microbiológico ao longo da cadeia produtiva.

Os valores obtidos nas contagens microbiológicas foram avaliados também quanto à sua conformidade com os limites estabelecidos na legislação vigente ou, quando inexistentes, comparados a valores de referência recomendados na literatura científica. Ressalta-se que apenas os parâmetros previstos em legislação possuem caráter normativo e obrigatório, enquanto os limites descritos em estudos, livros técnicos e códigos de boas práticas têm natureza essencialmente orientativa.

Para amostras de leite, foi considerado o limite máximo de 300.000 UFC/mL para contagem de aeróbios mesófilos, conforme a Instrução Normativa nº 76/2018 do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) que aprova os Regulamentos Técnicos referentes à identidade e às características de qualidade do leite cru refrigerado, do leite pasteurizado e do leite pasteurizado tipo A. Para as contagens de Enterobacteriaceae, na ausência de limites estabelecidos pela legislação, para amostras de leite, foi considerado como valor de referência o limite de ≤ 100 UFC/mL, conforme proposto pelo ICMSF (Microorganisms in Foods 8). Para a avaliação das contagens de coliformes em amostras de leite, também sem limites estabelecidos pela legislação brasileira para esse parâmetro específico, foi adotado como valor de referência o limite de ≤ 100 UFC/mL, conforme descrito por ROBINSON (Dairy

Microbiology). Esse valor foi utilizado com finalidade comparativa e interpretativa, não possuindo caráter regulatório.

Para a avaliação da presença e contagem de *E. coli*, foram considerados limites distintos de acordo com o tipo de amostra. Para amostras de leite, foi adotado o valor de ≤ 100 UFC/mL, conforme estabelecido pelo Codex Alimentarius (CAC/RCP 57-2004) e pelo Regulamento (CE) nº 2073/2005. Para amostras de água limpa, foi considerado o padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria GM/MS nº 888/2021, que determina ausência de *E. coli* em 100 mL como limite regulatório. Para superfícies amostradas por swab, como o tanque de expansão, foi adotado como referência o critério de ausência em 100 cm², conforme orientações da norma ISO 18593:2018, utilizada para monitoramento higiênico de superfícies em contato com alimentos.

A ocorrência de *E. coli* foi definida como a presença de isolamento confirmado a partir das amostras analisadas. A distribuição dos isolados foi descrita de acordo com o tipo de amostra, a propriedade e as etapas da produção leiteira. A ocorrência de isolados resistentes, multirresistentes (MDR) e produtores de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) foi determinada com base nos perfis obtidos nos testes de sensibilidade antimicrobiana, sendo os resultados apresentados de forma descritiva.

As análises estatísticas foram realizadas no software R v.4.3.3, com auxílio do RStudio v.2023.03.0+386 (R Core Team, 2024; RStudio Team, 2020). Contagens abaixo do limite de detecção (LOD) para UFC/mL (1 UFC/mL) e para UFC/cm² (0,1 UFC/cm²) foram substituídas por LOD/2 (Canales et al. 2018; Chen et al. 2013; van Os et al. 2023). Para a análise, todos os valores foram transformados em log₁₀.

A homogeneidade das variâncias foi avaliada usando os testes de Levene e Bartlett, enquanto a normalidade dos resíduos foi avaliada usando o teste de Shapiro-Wilk. As comparações entre grupos foram conduzidas por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido de análises post-hoc pelo teste de Conover, com ajuste dos valores de p pelo método Holm (Dinno, 2024). O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$) para todos os testes estatísticos. Representações gráficas foram geradas usando o pacote ggplot2 (Wickham, 2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das propriedades leiteiras avaliadas

As propriedades leiteiras avaliadas foram caracterizadas a partir de informações obtidas por meio de questionário aplicado aos produtores, contemplando os seguintes aspectos: sistema de produção, escala produtiva, manejo de ordenha, higiene, sanidade animal, origem da água utilizada e destino dos resíduos gerados na atividade.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que quatro propriedades adotavam o sistema de produção intensivo, enquanto duas atuavam sob regime semi-intensivo, não sendo identificadas propriedades com sistema extensivo. Essa distribuição reflete uma tendência de intensificação da pecuária leiteira, impulsionada pela busca por maior produtividade, eficiência no uso de recursos e melhoria da qualidade do leite. Esse processo é documentado em estudos como o de CLAY et al. (2020), que descrevem a intensificação dos sistemas de produção leiteira como um fenômeno global caracterizado pelo aumento da produtividade e maior tecnificação das fazendas e TONA (2022) que destaca que a produção de leite tem migrado de sistemas tradicionalmente menos produtivos para modelos mais intensivos, impulsionada pela necessidade de maior eficiência no uso de recursos.

Em relação ao número de animais lactantes, duas propriedades possuíam até 30 animais, duas apresentavam entre 30 e 60, e duas contavam com mais de 60 animais em lactação. A produção diária de leite também apresentou variação entre as propriedades, sendo duas com produção inferior a 200 litros por dia, duas com produção entre 201 e 1.200 litros, e duas com produção superior a 1.200 litros diários, critério este escolhido para caracterização do porte das propriedades.

Quanto ao sistema de ordenha, quatro propriedades utilizavam ordenha mecanizada em circuito fechado, enquanto duas realizavam ordenha tipo “balde ao pé”, o que pode influenciar as condições higiênico-sanitárias da produção, uma vez que sistemas mais abertos estão geralmente associados a maior risco de contaminação microbiológica, aspecto que pode se refletir nos resultados obtidos nas análises microbiológicas deste estudo. Essa observação é corroborada por estudos da literatura, como os de ISMIARTI et al. (2018) e IRIE et al. (2021), os quais demonstram que sistemas de ordenha com maior grau de exposição e manipulação manual, como o método “balde ao pé”, tendem a apresentar maior carga microbiana quando

comparados a sistemas mecanizados. Segundo esses autores, a maior exposição do leite ao ambiente, bem como a menor eficiência na higienização dos utensílios utilizados, contribuem significativamente para o aumento do risco de contaminação microbiológica, impactando diretamente a qualidade higiênico-sanitária do produto final.

Nenhuma das propriedades avaliadas realizava o California Mastitis Test (CMT) como rotina para detecção de mastite subclínica, e em todas as propriedades o leite de descarte era destinado à alimentação animal. No que se refere às práticas de higiene durante a ordenha, cinco propriedades relataram a adoção de pré-dipping e pós-dipping, enquanto uma não realizava essas práticas de forma sistemática. A higienização adequada de utensílios e equipamentos foi observada em três propriedades, enquanto as demais apresentavam falhas nesse procedimento. A ausência da realização rotineira do California Mastitis Test (CMT) nas propriedades avaliadas representa uma limitação importante no monitoramento da mastite subclínica, uma vez que esse teste é amplamente utilizado como ferramenta de triagem para detecção precoce da enfermidade e controle da qualidade do leite (DANZE, 2020). Além disso, práticas inadequadas de higiene durante a ordenha, como a não adoção sistemática de pré-dipping e pós-dipping, estão associadas ao aumento da ocorrência de mastite e à piora da qualidade microbiológica do leite, sendo reconhecidas como fatores de risco importantes para infecções intramamárias (BYOMI et al. 2020); (COSTA et al. 2019). Estudos também demonstram que a adoção dessas práticas, aliada à correta higienização de utensílios e equipamentos de ordenha, contribui significativamente para a redução da contagem bacteriana e da incidência de mastite, refletindo diretamente na melhoria da qualidade do leite produzido (SOUTELINO et al. 2022). Dessa forma, as falhas observadas nas propriedades analisadas podem explicar, ao menos em parte, possíveis alterações nos parâmetros microbiológicos do leite.

A água utilizada nas atividades de ordenha e higienização teve como principal origem poços artesianos, presentes em cinco propriedades, enquanto uma utilizava poço semi-artesiano. Em relação ao destino da água residual, apenas duas propriedades realizavam algum tipo de tratamento, consistindo na separação das frações sólida e líquida dos resíduos, ao passo que quatro não adotavam qualquer forma de tratamento prévio. Embora essa prática contribua parcialmente para o manejo dos resíduos, ela não garante a remoção de microrganismos ou de compostos químicos, como resíduos de antimicrobianos, o que pode representar riscos ambientais

pela possibilidade de disseminação de resistência antimicrobiana, especialmente em propriedades com maior volume de produção. Estudos como o de OLIVER et al. (2019) demonstram que resíduos provenientes da produção leiteira, incluindo efluentes e dejetos, podem conter antimicrobianos e bactérias resistentes, os quais persistem no ambiente mesmo após processos de manejo e tratamento. Os autores destacam que essas substâncias nem sempre são completamente removidas, podendo permanecer no solo e na água e favorecer a seleção de microrganismos resistentes. De forma semelhante, WANG et al. (2024) evidenciam que ambientes impactados por resíduos agropecuários apresentam maior abundância e diversidade de genes de resistência antimicrobiana, indicando que o descarte inadequado desses efluentes contribui para a disseminação desses genes no ambiente. Dessa forma, mesmo práticas parciais de tratamento, como a separação de frações sólida e líquida, podem não ser suficientes para mitigar esses riscos, especialmente em sistemas de maior escala produtiva.

Quanto ao uso de antimicrobianos, observou-se com base nas informações obtidas no questionário que é uma prática presente na rotina sanitária das propriedades leiteiras avaliadas e que o emprego ocorre em diferentes perfis produtivos, principalmente decorrente de mastite. Entre as classes relatadas, macrolídeos e aminoglicosídeos foram as mais frequentemente citadas, sendo utilizadas em cinco das seis propriedades. Em seguida, beta-lactâmicos, cefalosporinas, fenicóis, tetraciclina e polipeptídeos foram relatados em quatro propriedades, indicando um uso relativamente disseminado dessas classes no conjunto avaliado. Estudos como o de MESQUITA et al. (2019) evidenciam alta prevalência de patógenos associados à mastite em rebanhos leiteiros no Brasil, bem como níveis elevados de resistência e multirresistência a diferentes classes de antimicrobianos comumente utilizadas no tratamento. De forma semelhante, LOPES et al. (2022) demonstram que isolados bacterianos provenientes de propriedades leiteiras brasileiras apresentam resistência a antimicrobianos amplamente utilizados, como penicilina, tetraciclina e amoxicilina, indicando a presença de pressão seletiva nesses sistemas produtivos. Nesse contexto, a utilização de múltiplas classes de antimicrobianos, como observado nas propriedades avaliadas, reflete um padrão já descrito na literatura nacional e pode contribuir para o aumento da resistência microbiana, especialmente quando não associada a práticas adequadas de diagnóstico e uso racional.

3.2 Distribuição das contagens microbiológicas nas propriedades leiteiras

3.2.1 Contagens Microbianas na Cadeia Produtiva do Leite

A avaliação das contagens microbianas foi realizada com o objetivo de caracterizar o perfil de contaminação geral ao longo da cadeia leiteira, considerando matrizes representativas do produto, do ambiente e da higienização e permitir compreender em quais etapas ocorre maior acúmulo de microrganismos e identificar possíveis pontos de contaminação. As análises incluíram microrganismos indicadores utilizados em avaliações de qualidade higiênico-sanitária — aeróbios mesófilos, Enterobacteriaceae, coliformes totais e *E. coli* — em diferentes tipos de amostras. Os valores obtidos foram expressos como média e desvio padrão (UFC/mL ou UFC/cm²), após transformação logarítmica (log₁₀) para fins de análise estatística e estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2. Contagens microbianas gerais por tipo de amostra coletada.

Amostras	Microrganismos			
	Aeróbios mesófilos	Enterobacteriaceae	Coliformes	<i>E. coli</i>
Leite do teto *	3.83 ± 0.63	1.12 ± 0.97	0.96 ± 0.87	0.58 ± 0.82
Leite do tanque *	4.78 ± 1.13	2.94 ± 1.18	2.23 ± 1.33	0.49 ± 1.01
Água limpa *	2.04 ± 0.95	0.21 ± 0.79	-0.13 ± 0.41	-0.18 ± 0.32
Água residual *	6.44 ± 1.14	4.12 ± 1.44	3.93 ± 1.41	3.57 ± 1.29
Swab tanque #	2.55 ± 1.39	-0.29 ± 1.10	-0.52 ± 0.94	-1.05 ± 0.70
Swab teteira #	3.16 ± 1.20	0.01 ± 1.46	-0.16 ± 1.34	-0.67 ± 0.83

* UFC/mL; # UFC/cm²

As contagens médias apresentadas na Tabela 2 mostraram diferenças entre os tipos de amostras analisadas. No leite coletado diretamente dos tetos dos animais, as médias de aeróbios mesófilos (3,83 log UFC/mL) indicaram uma carga microbiana alta, associada principalmente à microbiota do canal do teto e à superfície dos tetos, mesmo após os procedimentos de preparo para a ordenha, e não necessariamente ao contato com o ambiente externo. Já as contagens de Enterobacteriaceae, coliformes totais e *E. coli* foram mais baixas, o que sugere que a maior parte das amostras estavam em condições higiênicas adequadas logo após a ordenha. De forma complementar, estudos como o de NOGARA et al. (2022) destacam que a transferência de microrganismos da superfície dos tetos para o leite está diretamente relacionada à eficiência dos procedimentos de pré-ordenha, reforçando que a microbiota presente nos tetos constitui uma das principais fontes iniciais de contaminação. Nesse contexto, as maiores contagens de aeróbios mesófilos observadas no leite coletado diretamente dos

tetos podem estar associadas à microbiota natural e às condições locais da superfície do teto, enquanto as menores contagens de Enterobacteriaceae, coliformes e *E. coli* sugerem ausência significativa de contaminação fecal ou ambiental no momento da coleta.

No leite do tanque, observou-se um aumento geral das contagens para todos os grupos avaliados, especialmente aeróbios mesófilos (4,78 log UFC/mL) e Enterobacteriaceae (2,94 log UFC/mL). No entanto, apesar das coletas de leite do tanque serem realizadas de forma padronizada durante a primeira ordenha da manhã, após homogeneização do conteúdo armazenado, observou-se variação nas condições do tanque entre as propriedades no momento da coleta. Na maioria das visitas, o tanque já continha leite proveniente de ordenhas anteriores, uma vez que a coleta pelo transporte não havia sido realizada no dia anterior. Essa variação no tempo de armazenamento do leite pode influenciar diretamente as contagens microbianas, uma vez que o período de permanência no tanque, mesmo sob refrigeração, favorece a multiplicação de microrganismos e aumenta a probabilidade de contaminação cruzada a partir de superfícies e equipamentos. Estudos como o de SOARES et al. (2024) comprovam esta afirmação, os autores demonstram que o leite armazenado em tanques de expansão pode apresentar aumento significativo nas contagens de microrganismos, especialmente aeróbios mesófilos, estando esse comportamento diretamente relacionado ao tempo de armazenamento. Os autores destacam que, mesmo sob refrigeração, a permanência prolongada do leite no tanque favorece a multiplicação microbiana. De forma semelhante, MÜLLER et al. (2022) evidenciam que há variações significativas na qualidade microbiológica do leite entre diferentes pontos da cadeia produtiva, sendo o armazenamento um fator determinante para o aumento das contagens bacterianas.

Os resultados para água limpa mostraram baixas contagens microbianas, condizentes com padrões de potabilidade. Entretanto, a água residual apresentou valores elevados (6,4 log aeróbios e 4,1 log Enterobacteriaceae), evidenciando acúmulo de matéria orgânica e resíduos lácteos. Esses valores indicam que o efluente proveniente da lavagem dos equipamentos e utensílios da ordenha constitui um importante reservatório microbiano dentro do ambiente produtivo, refletindo o acúmulo de resíduos orgânicos. Achados semelhantes foram relatados por KASELA et al. (2025), que avaliaram a água residual da ordenha em propriedades leiteiras e identificaram altas contagens de aeróbios mesófilos, superiores a 10^7 UFC/mL. Esses

autores demonstraram que tais águas não tratadas funcionam como fontes relevantes de poluição microbiológica e disseminação de genes de resistência antimicrobiana.

Os swabs de superfícies (tanque e teteiras) mostraram contagens intermediárias de aeróbios mesófilos (em torno de 2,55 a 3,16 log UFC/cm²) e valores muito baixos ou abaixo do limite de detecção para os demais grupos. Considerando que as coletas foram realizadas com o tanque e as teteiras durante a rotina de ordenha, em condição de uso e sem higienização prévia imediata, os resultados devem ser interpretados como indicadores do nível de contaminação ambiental típico do processo produtivo. Essa abordagem permite avaliar a carga microbiana presente nas superfícies no momento real de utilização, refletindo tanto as condições de uso quanto a eficácia das práticas de higienização adotadas previamente nas propriedades. Estudos realizados em condições semelhantes, com coleta durante a rotina de ordenha, também relatam valores próximos de 2,3 a 3,4 log UFC/cm² para aeróbios mesófilos (BOHRZ et al. 2019).

As variações observadas entre pontos da cadeia são compatíveis com estudos que destacam a influência das rotinas de ordenha e armazenamento do leite. Segundo OUAMBA et al. (2022), fatores como frequência de limpeza dos equipamentos, preparo do teto, tempo de refrigeração e condições de ventilação da sala de ordenha explicam grande parte das diferenças nas contagens entre propriedades (OUAMBA et al. 2022).

3.2.2 Influência do Tamanho das Propriedades na Carga Microbiana

Considerando que o manejo e a estrutura física podem influenciar diretamente as condições higiênico-sanitárias do leite, e que a escala de produção pode estar associada a diferentes níveis de tecnificação e organização do sistema produtivo, as contagens microbianas foram também avaliadas de acordo com o porte das propriedades. Essa análise comparativa permite identificar se há variações sistemáticas na carga microbiana associadas ao tamanho do sistema produtivo, refletindo diferenças no manejo dos animais, na limpeza dos equipamentos e na eficiência das práticas de refrigeração. As amostras foram agrupadas em propriedades de pequena, média e alta produção, de modo a obter uma visão integrada do perfil microbiológico em diferentes contextos produtivos.

Tabela 3. Contagens microbianas das amostras categorizadas por tamanho de propriedade.

Propriedades	Amostras	Microrganismos			
		Aeróbios mesófilos	Enterobacteriaceae	Coliformes	<i>E. coli</i>
Pequena	Leite do teto *	4.32 ± 0.21	0.84 ± 0.80	0.82 ± 0.42	0.23 ± 0.73
	Leite do tanque *	5.06 ± 0.85	2.67 ± 1.17	2.29 ± 1.33	0.70 ± 1.07
	Água limpa *	2.04 ± 0.86	0.16 ± 0.51	-0.30 ± 0.00	-0.30 ± 0.00
	Água residual *	6.14 ± 0.48	3.80 ± 0.85	3.61 ± 0.90	3.50 ± 0.84
	Swab tanque #	3.21 ± 1.71	-0.29 ± 1.30	-0.88 ± 0.77	-1.30 ± 0.00
	Swab teteira #	4.03 ± 1.02	0.53 ± 1.61	0.43 ± 1.64	-0.82 ± 0.65
Média	Leite do teto	3.31 ± 0.63	0.62 ± 0.87	0.43 ± 0.88	0.23 ± 0.62
	Leite do tanque	4.06 ± 1.21	2.41 ± 1.11	1.31 ± 1.29	-0.08 ± 0.53
	Água limpa	1.87 ± 1.34	-0.25 ± 0.12	-0.30 ± 0.00	-0.30 ± 0.00
	Água residual	5.84 ± 1.41	3.64 ± 2.24	3.42 ± 2.11	2.85 ± 1.80
	Swab tanque	2.52 ± 1.46	-0.67 ± 0.77	-0.72 ± 0.67	-1.30 ± 0.00
	Swab teteira	2.43 ± 1.06	-1.10 ± 0.25	-1.08 ± 0.53	-1.08 ± 0.53
Alta	Leite do teto	3.85 ± 0.56	1.90 ± 0.84	1.63 ± 0.84	1.29 ± 0.70
	Leite do tanque	5.23 ± 1.12	3.72 ± 0.97	3.08 ± 0.82	0.85 ± 1.18
	Água limpa	2.20 ± 0.67	0.73 ± 1.13	0.20 ± 0.61	0.07 ± 0.49
	Água residual	7.34 ± 0.82	4.91 ± 0.38	4.76 ± 0.52	4.37 ± 0.57
	Swab tanque	1.93 ± 0.75	0.08 ± 1.21	0.04 ± 1.18	-0.54 ± 1.09
	Swab teteira	3.03 ± 1.08	0.59 ± 1.55	0.19 ± 1.25	-0.11 ± 1.01

* UFC/mL; # UFC/cm²

Quando as contagens microbianas entre propriedades de diferentes portes foram comparadas, padrões que refletem tanto o nível de tecnificação quanto as particularidades de cada sistema produtivo foram revelados. No leite do teto, as propriedades de pequena produção exibiram a maior média de aeróbios mesófilos (4,32 log UFC/mL), seguidas das altas (3,85 log UFC/mL) e médias (3,31 log UFC/mL). Esse comportamento não linear indica que o porte produtivo não explica, por si só, as variações observadas nas contagens microbianas, sugerindo que outros fatores relacionados ao manejo e às condições higiênico-sanitárias também desempenham papel importante. Estudos recentes reforçam que o porte da propriedade, isoladamente, não é suficiente para explicar variações na qualidade microbiológica do leite. Trabalhos DEFANTE et al. (2019) evidenciam que propriedades que atendem aos padrões de

qualidade do leite não se distinguem apenas pelo porte, mas principalmente pelo nível de organização do sistema produtivo, manejo e cumprimento das boas práticas. Além disso, LEAL et al. (2022) demonstram que há grande variabilidade entre propriedades quanto à qualidade microbiológica do leite, independentemente da escala de produção, sendo essa variabilidade mais associada a fatores específicos de manejo e assistência técnica. Nesse contexto, o comportamento não linear observado neste estudo reforça que diferenças nas contagens microbianas entre propriedades de distintos portes refletem principalmente variações nas práticas de manejo e nas condições higiênico-sanitárias, e não exclusivamente o volume de produção.

Enterobacteriaceae e coliformes totais apresentaram comportamento semelhante, mas com menores valores nas propriedades médias (0,62 e 0,43 UFC/mL, respectivamente) em comparação às pequenas (0,84 e 0,82 UFC/mL). Já nas propriedades de alta produção, as médias voltaram a aumentar (1,90 e 1,63 UFC/mL). Em todas as categorias, as contagens de *E. coli* permaneceram baixas (0,23 a 1,29 UFC/mL), sugerindo baixo nível de contaminação por microrganismos de origem fecal ou ambiental nessa etapa inicial do processo, embora a presença desse microrganismo possa estar associada a diferentes fontes, incluindo contaminação ambiental ou casos de mastite. Valores semelhantes foram encontrados por FELICIANO et al. (2021), os autores estimam a concentração média inicial em 1,31 log UFC/mL, o estudo mostra que a concentração aumenta ao longo do tempo da cadeia de armazenamento (FELICIANO et al. 2021).

No leite do tanque, as diferenças entre os portes foram mais marcantes. As médias de aeróbios mesófilos variaram de 4,06 a 5,23 log UFC/mL, e as de Enterobacteriaceae e coliformes aumentaram de 2,41 para 3,72 e de 1,31 para 3,08 log UFC/mL, respectivamente. Valores comparáveis foram obtidos por WOODE et al. (2018), que avaliaram leite de tanque de duas fazendas de tamanhos distintos (≈ 520 –534 vacas vs. 92 vacas), com contagens de coliformes de $2,49 \times 10^2$ UFC/mL e $2,03 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente, sendo esses resultados associados, pelos autores, a condições sanitárias inadequadas e falhas nos processos de higienização de equipamentos e superfícies. De forma semelhante, no presente estudo, as contagens de coliformes observadas podem refletir limitações nos procedimentos de higienização ao longo do sistema de ordenha. Apesar das diferenças numéricas, as contagens de *E. coli* permaneceram baixas (0,23 a 1,29 log UFC/mL) em todos os grupos, sem indicação de uma fonte predominante de contaminação.

Nas amostras de água limpa, as contagens foram mais baixas e semelhantes entre os grupos microbianos e não mostraram diferenças expressivas entre os tamanhos de propriedade. Já na água residual, os valores foram naturalmente mais altos, entre 5,8 a 7,3 UFC/mL para aeróbios mesófilos e de 3,6 a 4,9 UFC/mL para Enterobacteriaceae, além de contagens de coliformes e *E. coli* que ultrapassaram 3,5 UFC/mL. Esse resultado é coerente com a natureza da amostra, pois a água residual concentra resíduos orgânicos e microrganismos oriundos da lavagem e do ambiente da ordenha.

Quanto aos swabs de tanque e de teteiras, as propriedades de pequena e alta produção mostraram contagens mais altas de aeróbios mesófilos nas teteiras (4,03 UFC/cm²). Resultados semelhantes foram observados por WILSON et al. (2024), os autores relataram que o tanque a granel apresentou as menores contagens bacterianas entre os pontos amostrados, permanecendo quase sempre abaixo do limite de quantificação (3,0 log UFC/swab) e ultrapassando esse limite apenas em duas coletas ocasionais. Em contrapartida, as teteiras e componentes associados, como mangueiras, apresentaram valores frequentemente acima de 3,0 log UFC/swab, chegando a até 6 log UFC/swab. Esses resultados reforçam a tendência observada no presente estudo, em que as teteiras apresentaram maiores contagens médias que o tanque de expansão. Essa diferença pode estar relacionada à maior dificuldade de higienização dessas estruturas, especialmente devido à sua geometria, ao material e ao contato frequente com resíduos orgânicos, o que favorece a formação de biofilmes e a persistência de microrganismos. Estudos como o de LATORRE et al. (2022) demonstram que superfícies de equipamentos de ordenha podem abrigar biofilmes microbianos, atuando como fontes contínuas de contaminação mesmo após procedimentos de limpeza. De forma semelhante, SCHEIB et al. (2023) evidenciam que a redução microbiana em teteiras após desinfecção pode ser limitada, sendo essa baixa eficiência atribuída à resistência de determinadas bactérias e, possivelmente, à geometria e estrutura das superfícies internas, que dificultam o contato completo com o desinfetante.

Sobre a distribuição das contagens microbianas, ela foi representada por meio de boxplots (Figuras 1 a 4), de forma a ilustrar graficamente a variação dos valores observados para cada grupo de microrganismos e tipo de amostra, conforme o porte das propriedades e se estão em conformidade com os limites regulatórios ou limites presentes na literatura científica. Essa abordagem permite visualizar de maneira

comparativa a dispersão, as medianas e a ocorrência de valores extremos.

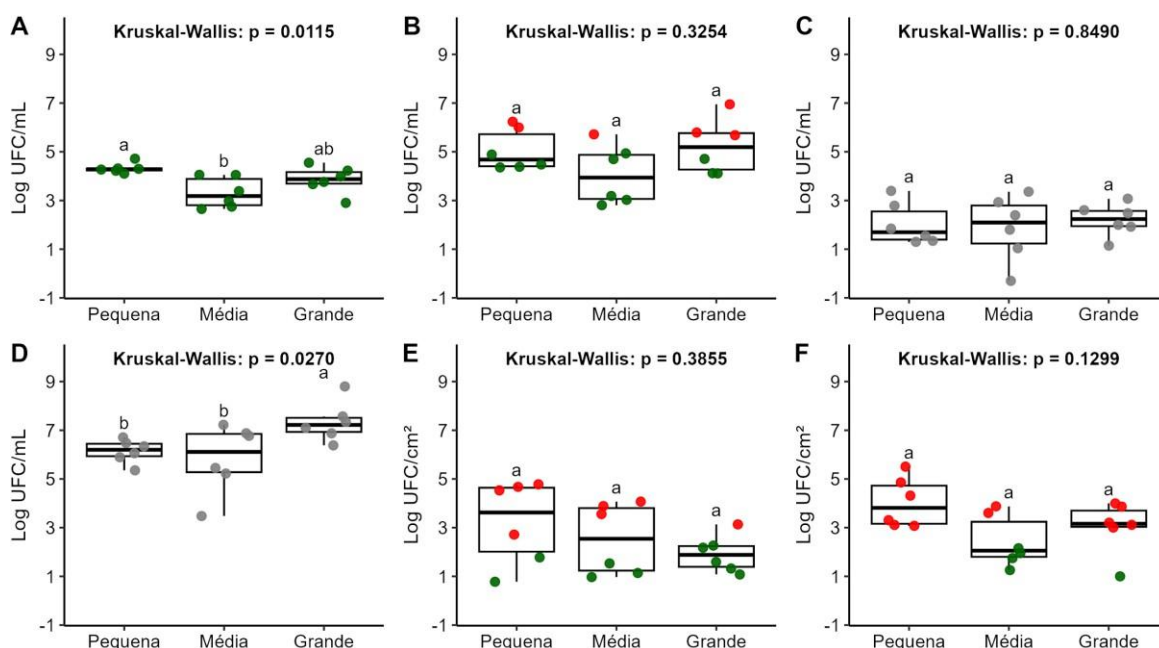


Figura 1. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de aeróbios mesófilos categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p \leq 0,05$).

As contagens de aeróbios mesófilos apresentaram diferenças significativas entre os portes produtivos para o leite do teto ($p = 0,0115$) e para a água residual ($p = 0,0270$) (Figura 1). No leite do teto, observou-se que as propriedades de pequena produção apresentaram as maiores médias, seguidas pelas de alta e média. Os estudos de PAIXÃO et al. (2017) corroboram com este achado, pois mostra que propriedades de pequenas produção apresentaram maiores contagens bacterianas totais e que médias e altas tiveram valores significativamente menores ($p < 0,05$).

Destaca-se que todas as propriedades avaliadas, independentemente do porte produtivo, apresentaram amostras de leite não conformes em relação ao limite regulatório brasileiro de 300.000 UFC/mL, estabelecido pela Instrução Normativa nº 76/2018 do MAPA (Figura 1). Trabalhos como de ARAÚJO et al. (2017) e DE ARAÚJO et al. (2023) relatam tendência semelhante, os autores mostram que muitas das propriedades avaliadas produzem leite fora do padrão microbiológico da legislação, e relaciona essa situação a práticas higiênicas na ordenha e manejo/armazenamento inadequados.

Na água residual, por outro lado, as propriedades de alta produção apresentaram as maiores contagens, possivelmente associadas a diferenças no manejo dos resíduos e nas condições operacionais das propriedades durante as etapas de limpeza (Figura 1). Apesar da tendência observada neste estudo, a associação entre elevadas contagens de aeróbios mesófilos em água residual e o porte de propriedades leiteiras ainda é pouco explorada na literatura científica, indicando a necessidade de investigações adicionais para confirmar e compreender os fatores envolvidos nesse padrão.

Para os demais tipos de amostra — leite do tanque, água limpa, swab do tanque e swab da teteira — não foram verificadas diferenças significativas entre os tamanhos de propriedade ($p > 0,05$), indicando que o porte produtivo não influenciou de forma expressiva as contagens nesses pontos do processo (Figura 1).

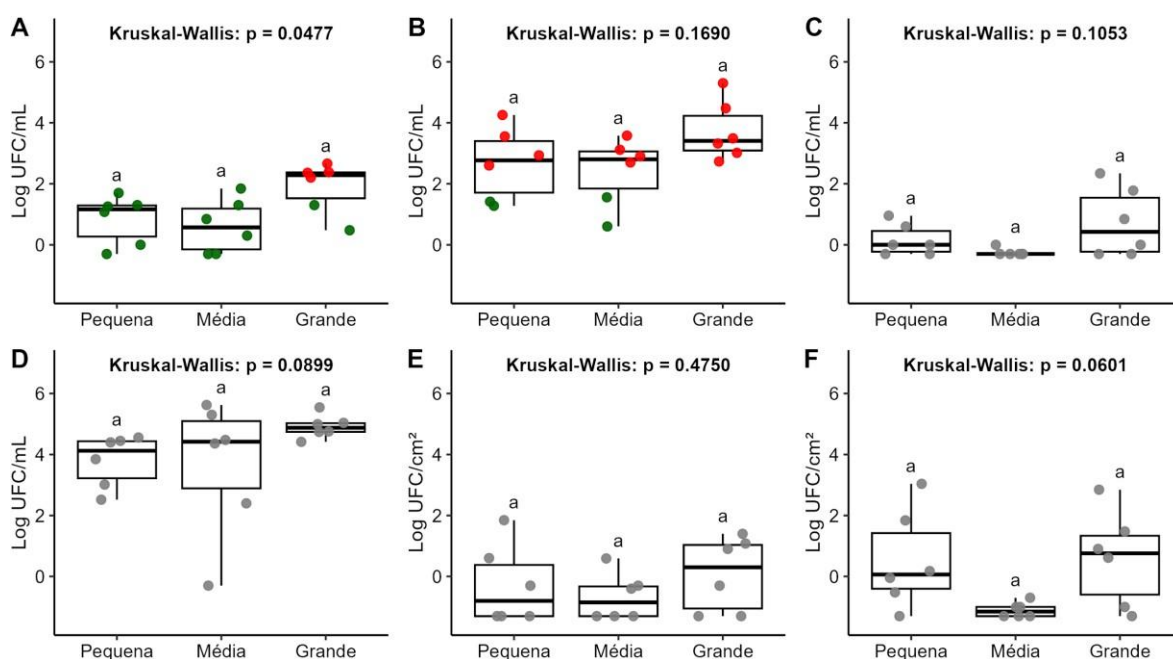


Figura 2. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de Enterobacteriaceae categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Letras minúsculas iguais indicam ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p > 0,05$).

A distribuição das contagens de Enterobacteriaceae ao longo da cadeia produtiva do leite não sofreu influência do tamanho das propriedades, com diferenças estatisticamente significativas observadas apenas no leite do teto (Figura 2). Entretanto, não foi identificada diferença estatística entre os pares de grupos, sugerindo

heterogeneidade dos dados, sem distinção clara entre os tamanhos de propriedade. Esse resultado pode sugerir que a presença desse grupo microbiano pode estar mais associada à etapa do processo do que ao tamanho da produção, refletindo a dinâmica natural de contaminação ambiental durante o armazenamento e a manipulação do leite. Em um estudo de ALMEIDA et al. (2020), o autor reforça que ambiente e manejo — limpeza de equipamentos, baldes, unidade de ordenha — são fontes relevantes de contaminação. De forma semelhante, MERZOUKI et al. (2017) avaliaram a qualidade microbiológica do leite cru em 10–12 fazendas com diferentes procedimentos de criação e manejo e altas cargas bacterianas foram atribuídas a falhas nas práticas higiênicas e o porte da fazenda não é citado como fator determinante (ALMEIDA et al. 2020; MERZOUKI et al. 2017).

Considerando o valor de referência de ≤ 100 UFC/mL proposto pelo ICMSF para Enterobacteriaceae em amostras de leite, observou-se a ocorrência de contagens acima desse limite principalmente no leite do tanque, indicando possíveis falhas nas condições higiênico-sanitárias ao longo do armazenamento e manejo do leite. Ressalta-se, no entanto, que esse valor possui caráter apenas orientativo.

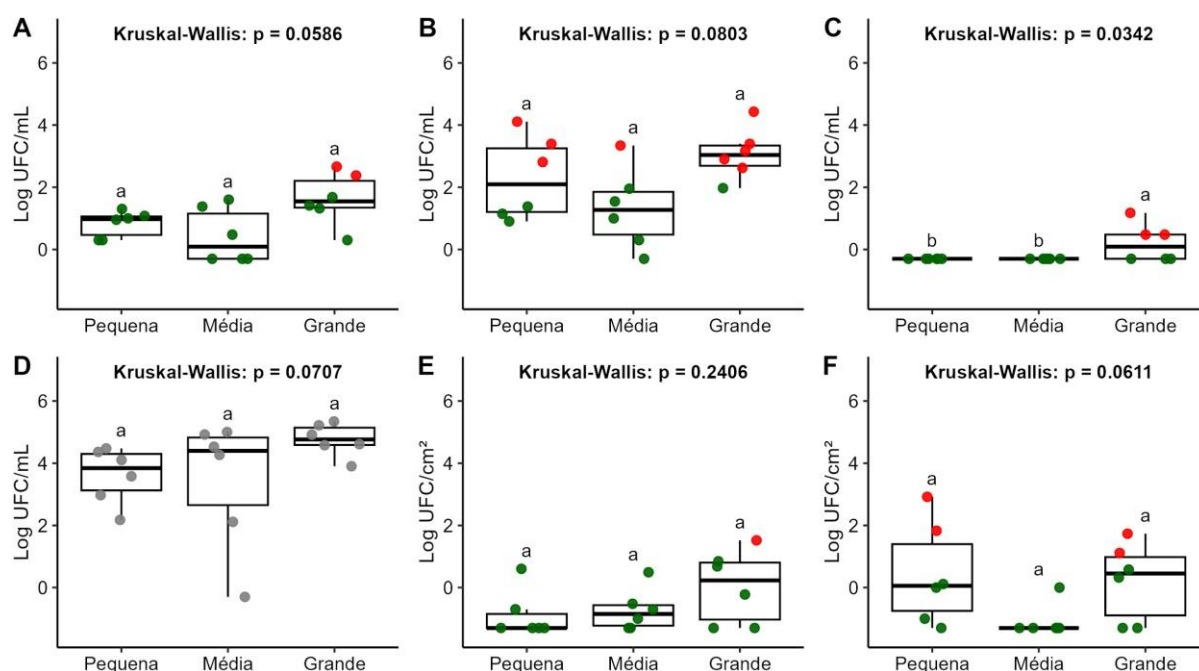


Figura 3. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de coliformes categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p \leq 0,05$).

A análise das contagens de coliformes ao longo da cadeia produtiva do leite indicou que a influência do tamanho da propriedade foi limitada a pontos específicos, enquanto a maior parte das matrizes apresentou comportamento semelhante entre os diferentes portes (Figura 3). Diferenças estatísticas foram observadas apenas na água limpa, na qual propriedades de alta produção apresentaram contagens superiores às pequenas e médias (Figura 3). Esse achado contrasta com o estudo de SOARES et al. (2023) que detectou coliformes totais em 65,6% de amostras de água em 32 fazendas leiteiras portuguesas, onde um maior número de animais piorou a situação numericamente, mas não alcançou significância estatística ($p = 0,279$), porém desinfecção periódica teve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,022$).

Ao considerar o valor de referência de ≤ 100 UFC/mL para coliformes em amostras de leite, conforme descrito por ROBISON (Dairy Microbiology), verifica-se que as contagens observadas no leite do tanque se situam, em média, acima desse parâmetro, mesmo sem caráter regulatório.

De modo geral, a distribuição das contagens de *E. coli* ao longo da cadeia produtiva do leite evidenciou que o efeito do tamanho da propriedade não foi uniforme entre as diferentes matrizes analisadas (Figura 4). Diferenças estatisticamente significativas em função do porte das propriedades foram observadas no leite do teto, na água limpa e no swab do tanque, nos quais as propriedades de alta produção apresentaram, em geral, maiores contagens quando comparadas às pequenas e médias (Figura 4). Estudos como o de ABABU et al. (2020) relatam que fazendas maiores apresentaram prevalência significativamente maior de *E. coli*, com associação positiva entre tamanho do rebanho e ocorrência de *E. coli* ($p < 0,05$) (ABABU et al. 2020).

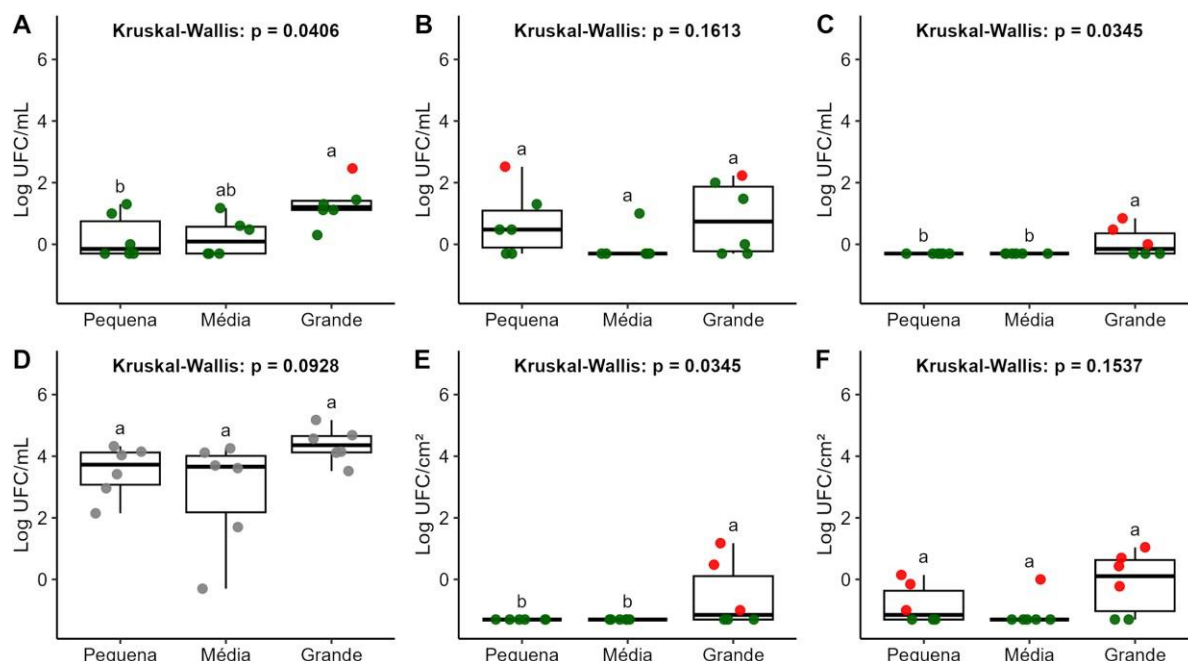


Figura 4. Boxplots e comparações estatísticas das contagens de *E. coli* categorizadas por tamanho de propriedades. (A) Leite do teto, (B) Leite do tanque, (C) Água limpa, (D) Água residual, (E) Swab do tanque e (F) Swab da teteira. As cores indicam contagens abaixo (verde) ou iguais/acima (vermelho) do limite regulatório e/ou recomendativo; pontos em cinza correspondem a amostras para as quais não existem limites estabelecidos. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Teste de Conover, $p \leq 0,05$).

Em relação aos diferentes critérios de referência adotados para *E. coli*, conforme o tipo de amostra, para água limpa, único parâmetro com caráter regulatório, estabelecido pela Portaria GM/MS nº 888/2021, foram observadas amostras em desacordo com a exigência de ausência do microrganismo, indicando comprometimento pontual da qualidade da água utilizada no processo. Para as amostras de leite, considerando o valor de referência de ≤ 100 UFC/mL estabelecido por normas internacionais (Codex Alimentarius e Regulamento CE nº 2073/2005), foram identificadas amostras com contagens acima desse limite. Em relação às superfícies, para as quais foi adotado o critério orientativo de ausência em 100 cm² (ISO 18593:2018), a detecção de *E. coli* acima desse parâmetro também foi observada, indicando possíveis deficiências nos procedimentos de higienização.

Estudos como o de GENČUROVÁ et al. (2008), contribuem com os resultados de água limpa do presente estudo, nele, cerca de 17% apresentaram *E. coli* acima de 0 UFC/100 mL, extrapolando o padrão microbiológico para água potável usada na fazenda. Adicionalmente, OLIVEIRA-FILHO et al. relata que *E. coli* esteve presente em 28 dos 29 poços analisados em seu estudo, o que está em conformidade com a Portaria GM/MS nº 888/2021 que define os padrões de qualidade para água potável e traz 0

UFC/100 mL como padrão microbiológico deste grupo em específico. De forma semelhante, um estudo de NYOKABI et al. (2021) em sistemas de produção de leite no Quênia encontrou que cerca de 42% das amostras de leite cru continham *E. coli*, valores preocupantes frente aos padrões de segurança da agência de normas no país (GENČUROVÁ et al. 2008; OLIVEIRA-FILHO et al. 2025; BRASIL, 2021; NYOKABU et al. 2021).

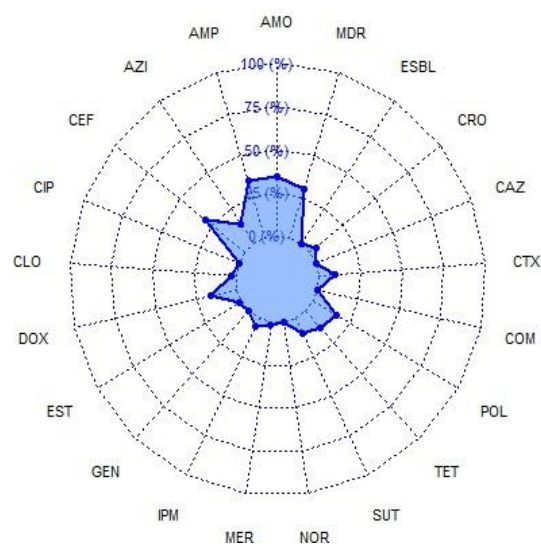
3.3 Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *E. Coli*

Durante a etapa de isolamento, observou-se predominância de colônias com perfil lactose-positiva (Lac+), com menor proporção de colônias lactose-negativas (Lac-), indicando que a maior parte dos isolados apresentava características compatíveis com *E. coli* e outros membros da família Enterobacteriaceae. A distribuição desses perfis variou entre os diferentes tipos de amostras e propriedades, refletindo possíveis diferenças nas fontes de contaminação ao longo da cadeia produtiva.

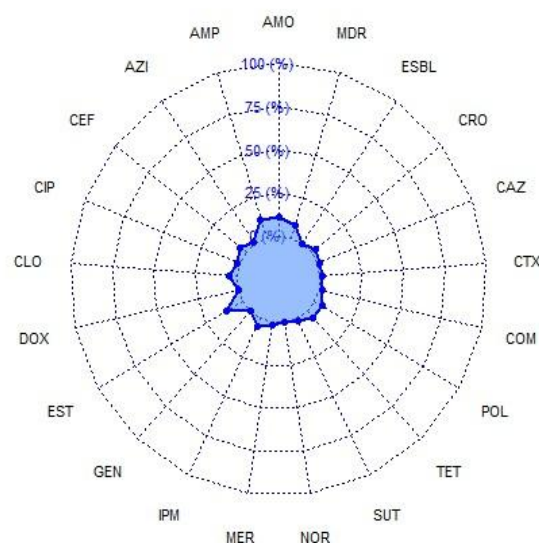
A avaliação da resistência antimicrobiana teve como objetivo caracterizar os perfis fenotípicos de resistência dos isolados de *E. coli* obtidos ao longo da cadeia produtiva do leite. Essa etapa buscou identificar a presença de cepas resistentes a diferentes classes de antimicrobianos de uso comum tanto na medicina veterinária quanto na humana, fornecendo subsídios para compreender possíveis riscos associados à disseminação de genes de resistência no ambiente de produção leiteira. Para isso, foram analisados isolados provenientes das diferentes matrizes amostradas agrupados conforme o porte de produção das propriedades (pequenas, médias e altas).

A avaliação do perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *E. coli* permitiu identificar os principais fármacos frente aos quais foram observadas maiores taxas de resistência, bem como possíveis diferenças associadas ao porte das propriedades. A Figura 5 apresenta a distribuição percentual do perfil de resistência antimicrobiana de 180 isolados de *E. coli* obtidos em diferentes escalas de produção, dispostos em um gráfico de radar (gráfico polar). Essa forma de visualização permitiu comparar simultaneamente múltiplos antimicrobianos e identificar padrões de resistência mais amplos.

Perfil de Resistência - Pequena



Perfil de Resistência - Média



Perfil de Resistência - Alta

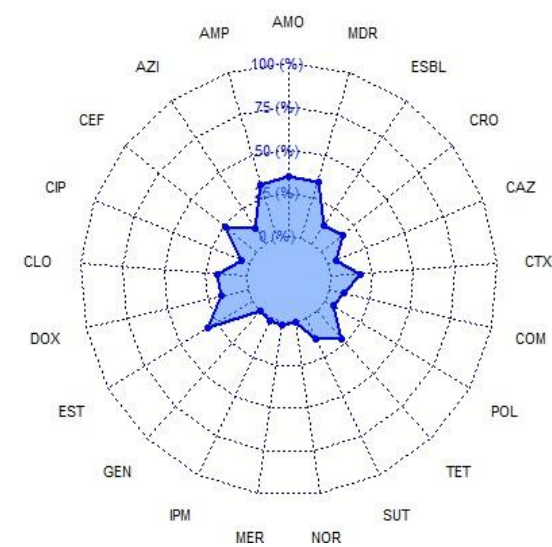


Figura 5. Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *E. coli* frente aos diferentes antibióticos testados, em propriedades de pequena, média e alta produção.

De forma geral, observou-se que os β -lactâmicos apresentaram as maiores frequências de resistência em todas as categorias avaliadas, configurando-se como a classe com menor eficácia frente aos isolados. A resistência à AMO e AMP foi particularmente elevada nas propriedades de pequena (34,92%) e alta produção (34,55% e 32,73%, respectivamente), enquanto nas propriedades de média produção esses percentuais foram consideravelmente menores (11,29% para ambos os antimicrobianos). Esse padrão indica que a resistência aos β -lactâmicos está amplamente disseminada, porém com intensidade distinta conforme o porte produtivo, sugerindo diferenças nos regimes de uso e na pressão seletiva exercida nesses sistemas.

A análise das informações obtidas por meio do questionário aplicado aos produtores permitiu observar que propriedades que relataram o uso frequente de antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos, como ceftiofur, cefalexina e amoxicilina associada ao ácido clavulânico, apresentaram maiores frequências de resistência a essa classe, especialmente nas propriedades de pequeno e alto porte. Esse padrão sugere que o uso desses fármacos pode estar associado à seleção de isolados resistentes, sendo consistente com o perfil observado nas análises microbiológicas.

A comparação dos resultados obtidos neste trabalho com pesquisas internacionais evidencia tanto convergências quanto divergências quanto ao papel do manejo produtivo na resistência antimicrobiana de *E. coli*. O estudo de NÜESCH-INDERBINEN et al. (2022) demonstrou que cepas comensais de *E. coli* isoladas de bezerros apresentaram resistência à AMP em uma fração expressiva dos isolados, indicando que a resistência antimicrobiana é altamente prevalente em animais jovens, independentemente do sistema de manejo adotado. Em contrapartida, QUINTEIRA et al. (2024) observaram que o manejo e a raça dos animais influenciam os perfis de resistência, sendo a resistência a β -lactâmicos amplamente disseminada, porém mais acentuada em sistemas de alta produção. De forma semelhante, KAREGI et al. (2022) avaliaram *E. coli* isoladas de animais criados em sistemas intensivos e extensivos, e embora não tenha sido encontrada associação estatisticamente significativa entre o tipo de sistema e a ocorrência de resistência ($p = 0,61$), os autores relataram tendência de maior resistência em criações intensivas, especialmente para β -lactâmicos como CFC e AMP. Já o estudo de PENATI et al. (2024) identificou prevalência muito alta de resistência a β -lactâmicos, com 100% dos isolados resistentes à AMP, além de variações entre grupos dentro da mesma fazenda, evidenciando que diferenças

intraprodutivas também podem contribuir para a disseminação da resistência. Por fim, VIJAY et al. (2025) relataram alta resistência fenotípica a β -lactâmicos (ampicilina e amoxicilina-clavulanato) em *E. coli* provenientes de leite, ambiente e manipuladores, com índices elevados de multirresistência em amostras de dejetos (60,5%). Apesar de documentarem variação entre propriedades, a associação direta entre o porte produtivo e os níveis de resistência não foi claramente estabelecida (NÜESCH-INDERBINEN et al. 2022; QUINTEIRA et al. 2024; KAREGI et al. 2022; PENATI et al. 2024; VIJAY et al. 2025).

Ainda no grupo dos β -lactâmicos, as cefalosporinas apresentaram resistência mais expressiva nas propriedades de alta produção, com destaque para CFC (23,64%), CTX (18,18%) e CRO (16,36%), enquanto nas propriedades de pequena produção os valores variaram entre 4,76% e 30,16%, e nas propriedades médias permaneceram abaixo de 5% para a maioria dos fármacos. O estudo de AWOSILE et al. (2018) demonstrou que o uso mais frequente de ceftiofur em fazendas leiteiras está fortemente associado à maior presença de *E. coli* resistentes a cefalosporinas de amplo espectro (ESC), apoiando a ideia de que sistemas de produção mais intensivos tendem a apresentar maior resistência antimicrobiana. De forma complementar, o estudo de MASSÉ et al. (2021) mostrou que, dentro de uma mesma fazenda, fatores como a categoria animal (estágio produtivo) e o manejo adotado influenciam de maneira expressiva os níveis e padrões de resistência, com isolados de bezerros e períodos de maior uso de antibióticos apresentando taxas mais elevadas de resistência às cefalosporinas. Em uma escala mais ampla, o estudo de MAHMOUDI et al. (2025) identificou que a resistência média de *E. coli* isoladas de leite e derivados foi significativamente maior em países em desenvolvimento (36,86%) do que em países desenvolvidos (23,22%; $P = 2,2e-16$), atribuindo essa diferença ao uso mais liberal e menos regulamentado de antimicrobianos na produção animal, o que pode favorecer a disseminação da resistência (AWOSILE et al. 2018; MASSÉ et al. 2021; MAHMOUDI et al. 2025).

As tetraciclinas apresentaram resistência moderada, porém consistente. A resistência à TET variou de 12,70% em propriedades pequenas a 21,82% nas altas, enquanto nas propriedades médias foi de 4,84%. Para DOX, os percentuais foram de 15,87% nas pequenas, 16,36% nas altas e ausência de resistência nas médias. Esses valores indicam que a resistência a tetraciclinas permanece relevante, especialmente em propriedades de pequena e alta produção, refletindo possivelmente o uso histórico

e recorrente dessa classe na produção leiteira, não estando relacionado ao porte ou intensificação da produção. O estudo de MAINDA et al. (2015) contribuem com estes achados, pois demonstrou prevalências ajustadas de resistência em *E. coli* a tetraciclina ($\approx 10,6\text{--}11,2\%$), ampicilina ($\approx 6,0\text{--}6,5\%$) e sulfametoxazol/trimetoprim ($\approx 4,5\%$) em fazendas leiteiras de pequeno, médio e grande porte, e, embora os percentuais variaram ligeiramente, não houve diferença estatisticamente significativa na prevalência total de resistência entre os sistemas produtivos. De forma semelhante, o estudo de OBAIDAT et al. (2017) avaliou 520 isolados de *E. coli* em 43 fazendas leiteiras (21 grandes e 22 pequenas) e observou alta resistência a estreptomicina (47,5%), tetraciclina (45,4%) e ampicilina (34,2%), sendo que a resistência à tetraciclina foi praticamente idêntica entre os sistemas, com diferenças discretas e estatisticamente limitadas entre fazendas grandes e pequenas. De modo complementar, o estudo de MAULANA et al. (2021) identificou resistência a tetraciclina em 63% dos isolados de *E. coli* obtidos de fazendas leiteiras com histórico recente de uso de antibióticos, contudo, os autores não estratificaram os resultados por densidade animal nem compararam fazendas com uso contínuo versus intermitente, não demonstrando uma relação causal direta entre intensificação produtiva e maior resistência (MAINDA et al. 2015; OBAIDAT et al. 2017; MAULANA et al. 2021).

Entre os macrolídeos, AZI apresentou resistência de 14,29% nas propriedades pequenas e 10,91% nas de alta produção, contrastando com apenas 1,61% nas propriedades médias. No grupo dos aminoglicosídeos, a resistência à EST foi elevada nas propriedades de alta produção (30,91%) e moderada nas médias (11,29%), enquanto nas pequenas foi residual (1,59%). Em contrapartida, não foi detectada resistência à GEN em nenhuma das categorias, indicando preservação da eficácia desse antimicrobiano frente aos isolados avaliados. O estudo de KERLUKU et al. (2023) corrobora com este achado, os autores demonstraram que cepas comensais de *E. coli* atuam como reservatórios relevantes de genes de resistência antimicrobiana (ARGs), com potencial de disseminação no ambiente e ao longo da cadeia alimentar. Apesar dessa capacidade, os autores observaram uma prevalência ainda relativamente baixa de resistência à gentamicina, o que sugere eficácia preservada desse fármaco, embora sob risco de erosão progressiva caso o uso não seja rigorosamente controlado (KERLUKU et al. 2023).

As fluoroquinolonas apresentaram baixa frequência de resistência, com valores máximos de 5,45% para CIP em propriedades de alta produção, e ausência de

resistência à NOR em todas as categorias. De forma semelhante, os carbapenêmicos mantiveram percentuais reduzidos, com resistência a IMP variando entre 1,82% e 4,84% e a MER abaixo de 2% em todas as categorias, sugerindo novamente, manutenção da eficácia desses antimicrobianos de uso mais restrito. O estudo de MOHAMED et al. (2022), que avaliou 39 isolados de *E. coli* produtoras de toxina Shiga (STEC) provenientes de leite cru em sete fazendas leiteiras do Egito, identificou maiores taxas de resistência para eritromicina (100%) e cefepime (97,4%), enquanto os carbapenêmicos (imipenem e meropenem) se mantiveram altamente eficazes, com 97,4% e 94,9% de suscetibilidade, respectivamente. Embora o estudo descreva multirresistência disseminada a diversas classes antimicrobianas, os carbapenêmicos foram apontados como o grupo mais eficaz contra as cepas STEC isoladas de leite bovino, com elevada suscetibilidade in vitro. Ainda no estudo de MAHMOUDI et al. (2025), uma meta-análise global abrangendo 287.792 isolados de *E. coli* de leite bovino e derivados, demonstrou baixa resistência às fluoroquinolonas (como levofloxacino) e aos carbapenêmicos (imipenem e meropenem). Os autores destacam que esses antimicrobianos de uso restrito mantêm elevada eficácia, apresentando níveis de resistência significativamente inferiores. Esses achados corroboram com os resultados deste trabalho, que evidenciaram baixa frequência de resistência às fluoroquinolonas e carbapenêmicos, sugerindo que essas classes ainda mantêm eficácia preservada frente aos isolados de *E. coli* da bovinocultura leiteira (MOHAMED et al. 2022; MAHMOUDI et al. 2025).

De maneira consistente, as propriedades de média produção apresentaram os menores percentuais de resistência para a maioria dos antimicrobianos, enquanto as propriedades de pequena e alta produção concentram as maiores frequências. Esse achado indica que tanto sistemas menos estruturados quanto mais complexos podem favorecer a seleção de *E. coli* resistentes. O estudo de DAVIES E WALES (2019) por exemplo, apoia a ideia de que fazendas com infraestrutura sanitária precária e sistemas intensivos com alta movimentação e contato entre animais enfrentam riscos distintos, porém igualmente críticos, para a seleção e disseminação de bactérias resistentes. De um lado, os ambientes menos estruturados favorecem a persistência ambiental de microrganismos resistentes devido à baixa biossegurança e manejo higiênico insuficiente, enquanto os sistemas de produção mais complexos e densos criam pressão seletiva contínua associada ao uso recorrente de antimicrobianos e à alta carga de exposição. De forma complementar, ainda no estudo de VIJAY et al. (2025), os demonstraram que fazendas com piores índices de higiene do leite apresentaram

maior probabilidade de ocorrência de *E. coli* e maiores taxas de multirresistência, enquanto o tamanho do rebanho não foi identificado como fator de risco relevante (DAVIES E WALES, 2019; VIJAY et al. 2025).

Além disso, não foi possível estabelecer uma relação direta entre práticas de manejo higiênico-sanitário, como a realização de pré e pós-dipping, e os perfis de resistência observados, uma vez que propriedades com diferentes níveis de adoção dessas práticas apresentaram resultados semelhantes. Esses achados indicam que a resistência antimicrobiana observada neste estudo pode estar associada a múltiplos fatores, não sendo possível atribuí-la exclusivamente às condições de manejo ou às características das propriedades avaliadas.

Com relação à multirresistência (MDR), observou-se que 43 isolados apresentaram resistência a três ou mais classes distintas de antimicrobianos, a maior frequência ocorreu no leite do teto, com 17 isolados (39,5%), seguido pelo leite do tanque e água residual, ambos com 7 isolados (16,3%) cada. Amostras de água limpa e swabs de teteira apresentaram 5 isolados (11,6%) cada, enquanto os swabs de tanque registraram 2 isolados (4,7%). O estudo de SHOAIB et al. (2023) demonstrou que 44,4% dos isolados de *E. coli* resistentes foram classificados como multirresistentes (MDR), destacando que o ambiente leiteiro atua como reservatório de patógenos bacterianos e genes de resistência antimicrobiana (ARGs). De forma complementar, o estudo de SARBA et al. (2023), identificou *E. coli* em 33,8% das amostras de leite e derivados, com maior contaminação em leite de tanque (47,4%) em comparação ao leite de úbere (34,7%). Os autores atribuíram essa diferença ao maior tempo de exposição e número de contatos durante o processo de ordenha e armazenamento, uma vez que o leite de tanque resulta da mistura de amostras de várias vacas, o que favorece a amplificação e disseminação bacteriana. Entre as propriedades avaliadas, as de alta produção concentraram o maior número de isolados MDR (SHOAIB et al. 2023; SARBA et al. 2023).

A análise das informações obtidas por meio do questionário aplicado aos produtores permitiu observar que propriedades que relataram o uso frequente de antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos, como ceftiofur, cefalexina e amoxicilina associada ao ácido clavulânico, apresentaram maiores frequências de resistência a essa classe, especialmente nas propriedades de pequeno e alto porte. Esse padrão

sugere que o uso desses fármacos pode estar associado à seleção de isolados resistentes, sendo consistente com o perfil observado nas análises microbiológicas.

Além dos isolados multiresistentes, foram identificados três isolados de *E. coli* produtores de β -lactamases de espectro estendido (ESBL), todos provenientes de propriedades de alta produção. Desses, dois foram isolados de amostras de leite do teto e um de swab do tanque de refrigeração. A detecção de cepas ESBL-positivas em matrizes diretamente associadas à ordenha representa um achado relevante, uma vez que esses microrganismos possuem a capacidade de hidrolisar penicilinas e cefalosporinas de amplo espectro, conferindo resistência a uma ampla gama de β -lactâmicos.

O estudo de GELALCHA et al. (2023) demonstrou que, em 33 amostras de leite de tanque provenientes de 17 fazendas leiteiras, *E. coli* produtora de ESBL foi identificada em 21,2% das amostras e em 41,2% das propriedades avaliadas. Os autores reforçam que o leite cru pode atuar como um reservatório zoonótico de alto risco para humanos, favorecendo a disseminação de cepas multirresistentes ao longo da cadeia produtiva. De forma semelhante, o estudo de NAHAR et al. (2023) avaliou 100 amostras de leite cru de vacas saudáveis e constatou que 70% continham *E. coli* e 58,6% dessas cepas eram ESBL-positivas, sustentando que o leite cru proveniente de pequenas fazendas pode funcionar como veículo importante de disseminação de *E. coli* ESBL multirresistentes. Por sua vez, o estudo de PENATI et al. (2024) isolou *E. coli* ESBL das fezes, animais, ambiente, além de leite de descarte. Os autores identificaram como principais fatores de risco a falta de limpeza rotineira de equipamentos de alimentação e o uso de leite de descarte contendo resíduos de antibióticos para alimentação de bezerros machos. Esses achados são particularmente relevantes, pois cruzam-se com os dados obtidos no presente estudo, em que todos os produtores relataram destinar o leite de descarte ao consumo de bezerros, prática que pode atuar como elo crítico de seleção e manutenção de cepas ESBL positivas dentro das propriedades leiteiras.

A detecção de isolados produtores de ESBL exclusivamente em propriedades de alta produção sugere a presença de maior pressão seletiva nesses sistemas, possivelmente associada ao uso de cefalosporinas de amplo espectro, como o ceftiofur, relatado em algumas propriedades avaliadas.

Em conjunto, os resultados demonstram que a resistência antimicrobiana em *E. coli* está consolidada na cadeia produtiva do leite, com destaque quantitativo para os β -lactâmicos, reforçando a importância do monitoramento contínuo e do uso racional de antimicrobianos na produção leiteira.

3.4 Integração entre indicadores microbiológicos, resistência antimicrobiana e práticas de manejo nas propriedades leiteiras

A análise integrada dos resultados mostrou que o porte da propriedade, embora associado a algumas diferenças estatísticas, não foi suficiente para explicar isoladamente o comportamento microbiológico observado ao longo da cadeia produtiva do leite. Quando as contagens são interpretadas em conjunto com as informações obtidas por questionário (Apêndice A), observa-se que práticas de manejo e higiene parecem exercer papel mais consistente sobre os resultados do que o volume diário de produção por si só. De forma geral, os dados indicam que variações nas rotinas de higiene, no manejo da ordenha e no uso de insumos influenciaram diretamente o comportamento microbiológico ao longo da cadeia produtiva. Padrões semelhantes foram observados por LÓPEZ-CARLOS et al. (2023), que ao avaliarem propriedades leiteiras verificaram que as condições de higiene na ordenha tiveram efeito direto na redução da carga bacteriana do leite, enquanto o tamanho do rebanho apresentou influência menos consistente sobre esses parâmetros. De forma complementar, ROCHA et al. (2024) demonstraram que a simples mudança no tipo de sistema de ordenha não foi suficiente para melhorar a qualidade microbiológica quando não acompanhada da implementação efetiva de boas práticas higiênicas. Resultados semelhantes também foram descritos por DEDDEFO et al. (2023), que identificaram associação significativa entre altos níveis de contaminação microbiológica do leite e falhas em práticas como higiene dos tetos, limpeza do ambiente e manejo da ordenha, independentemente de características estruturais das propriedades.

Nas propriedades em que não havia padronização completa das práticas de higiene na ordenha, foram observadas alterações mais evidentes já na etapa inicial da cadeia. Em uma das propriedades avaliadas, o produtor relatou não realizar pré-dipping e pós-dipping de forma sistemática, além de utilizar água sem tratamento e realizar higienização de equipamentos apenas com detergente alcalino. Nessa mesma propriedade, foram registradas as maiores contagens de aeróbios mesófilos no leite do teto quando comparadas às demais, sugerindo que a ausência dessas práticas pode

ter contribuído para maior carga microbiana inicial. Esse resultado reforça a importância da higiene pré-ordenha como barreira primária de controle microbiológico. Resultados semelhantes foram descritos por GONZÁLEZ et al. (2025), que identificaram que falhas na higiene dos tetos, ausência de pós-dipping e práticas inadequadas de ordenha estão diretamente associadas ao aumento de contagens microbianas no leite. Além disso, a importância do pré e pós-dipping como medidas essenciais na redução da carga microbiana e prevenção de contaminação é amplamente reconhecida, uma vez que essas práticas atuam diretamente na remoção de microrganismos presentes na superfície do teto antes da ordenha e na proteção do canal do teto após o processo (AMARAL ALVES et al. 2020).

Por outro lado, mesmo em propriedades que relataram adoção de práticas higiênicas mais completas, como uso de pré-dipping, pós-dipping e sistemas de limpeza com detergentes alcalinos e ácidos, foram observados níveis elevados de contaminação em etapas posteriores da cadeia. Nessas propriedades, as contagens de coliformes e *E. coli* foram mais expressivas em amostras de água limpa e, principalmente, de água residual. Esse padrão sugere que, embora as práticas de higiene na ordenha estejam implementadas, podem existir falhas em outros pontos do sistema, especialmente no controle da qualidade da água e no manejo de efluentes, permitindo a manutenção de microrganismos no ambiente. Achados similares foram observados por CHIMUTI et al. (2024), que demonstraram que, mesmo em propriedades com determinadas práticas higiênicas estabelecidas, fatores como fonte de água, limpeza de equipamentos e manejo do ambiente influenciam significativamente os níveis de contaminação microbiológica. Já ROOMI et al. (2025) identificaram que o uso de água de baixa qualidade para higienização de tetos, mãos e utensílios está diretamente associado ao aumento das contagens de coliformes no leite, evidenciando o papel da água como veículo de contaminação. Além disso, estudos que avaliam a cadeia produtiva demonstram que a presença de microrganismos em diferentes pontos do sistema, incluindo água e superfícies, favorece a persistência e a recirculação da contaminação, mesmo quando práticas de ordenha são adequadas (MOHAMED, 2018). Dessa forma, os resultados do presente estudo indicam que o controle microbiológico na produção leiteira depende não apenas da execução correta das práticas de ordenha, mas também do controle integrado de fatores ambientais, com destaque para a qualidade da água e o manejo de resíduos.

A análise das amostras de água reforça essa interpretação. Em propriedades onde não foi relatado tratamento da água utilizada na ordenha, foram observadas contagens detectáveis de coliformes e *E. coli* na água limpa, enquanto propriedades que relataram algum tipo de tratamento como cloração apresentaram resultados mais próximos dos padrões esperados. CHIMUTI et al. (2024) demonstrou que a fonte e o manejo da água utilizada na limpeza de equipamentos e mãos dos ordenhadores influenciam diretamente os níveis de contaminação microbiológica no leite e no ambiente. Além disso, a água residual apresentou consistentemente as maiores contagens microbiológicas, especialmente em propriedades com maior volume de produção. Esse achado, quando associado ao fato de que a maioria das propriedades não realiza tratamento adequado desses efluentes, sugere que a água residual pode atuar como fonte contínua de contaminação ambiental.

Outro padrão importante foi observado na relação entre as superfícies de contato e a qualidade do leite armazenado. Em propriedades onde as contagens de aeróbios mesófilos nas teteiras foram mais elevadas, também foram observadas maiores contagens no leite do tanque, indicando possível transferência de microrganismos durante a ordenha. Esse comportamento sugere que, mesmo quando a higienização é realizada, a sua eficiência pode não ser suficiente para impedir completamente a recontaminação, especialmente quando há acúmulo de resíduos orgânicos ou falhas na frequência e no protocolo de limpeza.

A comparação entre leite do teto e leite do tanque também evidenciou um padrão consistente de aumento da carga microbiana ao longo da cadeia. Em praticamente todas as propriedades, as contagens de aeróbios mesófilos, Enterobacteriaceae e coliformes foram superiores no leite do tanque em relação ao leite do teto. Esse resultado, quando analisado em conjunto com os dados do questionário, sugere que fatores como tempo de armazenamento, condições do tanque e contato com superfícies desempenham papel relevante no aumento da contaminação, independentemente das condições iniciais do leite.

No que se refere à resistência antimicrobiana, os dados também apresentaram associação com as práticas relatadas pelos produtores. As propriedades que relataram uso de maior diversidade de antimicrobianos, incluindo diferentes classes utilizadas no tratamento de mastite, foram aquelas nas quais se observaram perfis mais amplos de resistência, incluindo a presença de isolados multirresistentes e produtores de ESBL.

Esse padrão sugere que o uso frequente e diversificado de antimicrobianos pode estar relacionado à seleção de cepas resistentes no ambiente produtivo. Nesse sentido, KIKUCHI et al. (2022) verificaram que propriedades com maior intensidade de uso de antimicrobianos apresentaram maior frequência de isolados resistentes, incluindo microrganismos produtores de ESBL e resistentes à meticilina, evidenciando a relação entre pressão de uso e seleção de resistência. De forma semelhante, KOVAČEVIĆ et al. (2022) confirmaram a associação entre o uso de antimicrobianos no tratamento de mastite e o desenvolvimento de resistência em patógenos isolados do

Além disso, a presença de microrganismos resistentes em diferentes tipos de amostras — incluindo leite, água e superfícies — indica que a resistência antimicrobiana não está restrita ao animal ou ao produto final, mas distribuída ao longo de todo o sistema. Esse comportamento reforça a ideia de que o ambiente de produção funciona como um reservatório de microrganismos resistentes, favorecendo sua persistência e possível disseminação entre diferentes compartimentos da cadeia.

Outro ponto relevante identificado no cruzamento dos dados foi a prática comum de destinar o leite de descarte à alimentação animal, relatada em todas as propriedades avaliadas. Embora não seja possível estabelecer relação direta com os perfis de resistência observados, essa prática pode contribuir para a manutenção de microrganismos resistentes dentro do sistema produtivo, especialmente quando considerada em conjunto com o uso de antimicrobianos e a presença de resistência em diferentes matrizes ambientais. Nesse sentido, TETENS et al. (2019) demonstraram que a exposição indireta a antibióticos via leite pode favorecer a seleção de bactérias produtoras de ESBL em bezerros.

De forma integrada, os resultados indicam que a contaminação microbiológica e a resistência antimicrobiana na cadeia produtiva do leite estão associadas a um conjunto de fatores inter-relacionados, incluindo falhas pontuais na higiene da ordenha, variabilidade na qualidade da água, eficiência da limpeza de equipamentos e uso de antimicrobianos. Esses achados reforçam a importância de abordar o sistema produtivo de forma integrada, considerando não apenas características estruturais, mas principalmente a consistência e a qualidade das práticas de manejo adotadas.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram variações nas contagens de microrganismos indicadores de higiene, demonstrando que falhas pontuais no processo podem influenciar diretamente a carga microbiana da matéria-prima. Além disso, observou-se que o porte produtivo das propriedades não é um fator determinante da qualidade microbiológica, uma vez que propriedades de pequeno e médio porte também apresentaram valores elevados de contaminação. Quanto ao perfil de resistência antimicrobiana identificado nos isolados de *E. coli*, houve elevada frequência de resistência a β -lactâmicos, tetraciclina e macrolídeos, classes amplamente utilizadas na rotina da bovinocultura leiteira. Verificou-se, ainda, que as propriedades de alta produção concentraram a maior proporção de isolados multidroga resistentes. Além disso, a detecção de isolados resistentes a múltiplas classes de antimicrobianos (MDR) evidencia que a resistência bacteriana está consolidada no ambiente de produção, o que impõe riscos não apenas à saúde animal, mas também à saúde pública e à segurança de alimentos. Destaca-se também a detecção de isolados produtores de β -lactamases de espectro estendido (ESBL), todos provenientes de propriedades de alta produção, reforçando a importância da adoção de programas de manejo racional de antimicrobianos e monitoramento microbiológico contínuo nas propriedades leiteiras. Ao integrar ações de controle dentro de uma abordagem de Saúde Única, é possível mitigar a contaminação microbiana, aprimorar a qualidade do leite e reduzir a propagação da resistência antimicrobiana, promovendo a sustentabilidade sanitária e produtiva da cadeia leiteira.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, CNPq e FAPEMIG

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABABU, Ashenafi; ENDASHAW, Dereje; FESSEHA, Haben. Isolation and antimicrobial susceptibility profile of *Escherichia coli* O157: H7 from raw milk of dairy cattle in Holeta District, Central Ethiopia. **International Journal of Microbiology**, v. 2020, n. 1, p. 6626488, 2020. DOI: 10.1155/2020/6626488

ALMEIDA, Camila Chioda de et al. Enterobacteriaceae in calves, cows and milking environment may act as reservoirs of virulence and antimicrobial resistance genes. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 2, p. 376-380, 2020. DOI: 10.1590/fst.37819

AMARAL ALVES, ESD et al. Bovine Mastitis and Post-Dipping: A Review of the Milk Quality. *International Journal of Zoology and Animal Biology*, 2020. DOI: 10.23880/izab-16000222

ARAÚJO, Renata de Moraes Peixoto et al. Virulence factors in *Staphylococcus aureus* and quality of raw milk from dairy cows in a semiarid region of northeastern Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 1-8, 2017. DOI: 10.22456/1679-9216.80637

AWOSILE, Babafela et al. *Salmonella enterica* and extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* recovered from Holstein dairy calves from 8 farms in New Brunswick, Canada. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 4, p. 3271-3284, 2018. DOI: 10.3168/jds.2017-13277

BAE, W., Kaya, K.N., HANCOCK, D.D., CALL, D.R., PARK, Y.H., BESSER, T.E. Prevalence and antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* spp. from cattle farms in Washington State. **Applied and Environmental Microbiology**, 71, 169–174, 2005. DOI: 10.1128/AEM.71.1.169-174.2005

BYOMI, Ahmed et al. Epidemiology of mastitis in dairy cattle with special reference to some associated risk factors. **Journal of Current Veterinary Research**, v. 2, n. 1, p. 35-46, 2020. DOI: 10.21608/jcivr.2020.90222

BOHRZ, D. D. A. S. et al. Quantificação de *Staphylococcus aureus* e bactérias mesófilas aeróbias para avaliar higienização de equipamentos de ordenha. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, p. 1696, 2019. DOI: 10.22456/1679-9216.97777

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº

76, de 26 de novembro de 2018. Ficam aprovados os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial [da] União**: Brasília - DF, ed. 230, seção 1, p.9, 30 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Estabelece os procedimentos relativos ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 2021. Acesso: 14 jan 2025

Canales, R. A., Wilson, A. M., Pearce-Walker, J. I., Verhougstraete, M. P., & Reynolds, K. A. Methods for Handling Left-Censored Data in Quantitative Microbial Risk Assessment. **Applied and Environmental Microbiology**, 84(20), 2018. DOI: 10.1128/AEM.01203-18

Chen, H., Quandt, S. A., Grzywacz, J. G., & Arcury, T. A. A Bayesian multiple imputation method for handling longitudinal pesticide data with values below the limit of detection. **Environmetrics**, 24(2), 132–142, 2013. DOI: 10.1002/env.2193

CHIMUTI, S. et al. Contribution of farm-level hygiene and handling practices to microbial safety profiles in the informal dairy sector in Zimbabwe. **Journal of food protection**, v. 87, n. 8, p. 100313, 2024. DOI: 10.1016/j.jfp.2024.100313

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 34nd ed. CLSI standard M02, M07, M11. Wayne, PA: CLSI, 2024.

CLAY, N., Garnett, T., & Lorimer, J. Dairy intensification: Drivers, impacts and alternatives. **Ambio**, 49(5), 2020. DOI: 10.1007/s13280-019-01177-y

Code of hygienic practice for milk and milk products (CAC/RCP 57-2004). **Rome: FAO/WHO**, 2004.

Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L 338, 22 Dec. 2005.

COSTA, Geraldo M. et al. Risk factors for high bulk milk somatic cell counts in dairy

herds from Campos das Vertentes region, Minas Gerais State, Brazil: a case-control study. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 08, p. 606-613, 2019. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5826

DAVIES, Robert; WALES, Andrew. Antimicrobial resistance on farms: a review including biosecurity and the potential role of disinfectants in resistance selection. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 18, n. 3, p. 753-774, 2019. DOI: 10.1111/1541-4337.12438

DE ARAÚJO, Viviane Maia et al. QUALITY OF RAW BULK-TANK MILK PRODUCED IN NORTHEAST BRAZIL. **Bioscience Journal**, v. 39, 2023. DOI: 10.14393/BJ-v39n0a2023-59825

DEFANTE, Leslié et al. Typology of dairy production systems that meet Brazilian standards for milk quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, p. e20180023, 2019. DOI: 10.1590/rbz4820180023

DEDDEFO, Abiot et al. Factors affecting the microbiological quality and contamination of farm bulk milk by *Staphylococcus aureus* in dairy farms in Asella, Ethiopia. **BMC microbiology**, v. 23, n. 1, p. 65, 2023. DOI: 10.1186/s12866-022-02746-0

DINNO, A. **Conover.test: Conover-Iman Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums**, 2024. <https://cran.r-project.org/package=conover.test>

FELICIANO, Rodney et al. Probabilistic modelling of *Escherichia coli* concentration in raw milk under hot weather conditions. **Food Research International**, v. 149, p. 110679, 2021. DOI: 10.1016/j.foodres.2021.110679

GARZON, Adriana et al. Antimicrobial stewardship on the dairy: Evaluating an on-farm framework for training farmworkers. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 6, p. 4171-4183, 2023. DOI: 10.3168/jds.2022-22560

GELALCHA, Benti D. et al. Molecular epidemiology and pathogenomics of extended-spectrum beta-lactamase producing-*Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from bulk tank milk in Tennessee, USA. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1283165, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1283165

GENČUROVÁ, Václava et al. Drinking water indicator evaluation in selected dairy cow

farms with different management system in the Czech Republic. **Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., ISBN**, p. 1211-8516, 2008. DOI: 10.11118/actaun200856040057

GONZÁLEZ, Israel Daniel Ricardo et al. Characterization of family goat farms and determination of risk factors associated with the sanitary qualities of raw milk and fresh cheese in three production areas in Mexico. **Veterinary World**, v. 18, n. 4, p. 927, 2025. DOI: 10.14202/vetworld.2025.927-938

HUNT, M. E. & RICE, E. W. Microbiological examination. In: EATON et al. (Eds), **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater**, 21st Ed. Washington, D.C.: **American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF)**. Part 9000, p.9.1-9.169, 2005.

ICMSF – **International Commission on Microbiological Specifications for Foods**. Microorganisms in foods 8: Use of data for assessing process control and product acceptance. New York: Springer, 2011.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 18593:2018 — Microbiology of the food chain — Horizontal methods for surface sampling. Geneva: ISO, 2018.

IRIE, Yusuke et al. Cleaning procedures and cleanliness assessments of bucket milkers and suckling buckets on Japanese dairy farms. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 83, n. 5, p. 863-868, 2021. DOI: 10.1292/jvms.20-0432

JM, DAS. BOVINE MASTITIS AND POST-DIPPING: A REVIEW OF THE MILK QUALITY. **International Journal of Zoology and Animal Biology**, v. 3, n. 2, 2020. DOI: 10.23880/izab-16000222

KAPLAN, Selçuk. Global research output on antimicrobial resistance in dairy farming. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 76, p. e13293, 2024. DOI: 10.1590/1678-4162-13293

KAREGI, I. et al. Antimicrobial Resistance Profile and Characterization of ESBLs in *Escherichia coli* from Camels in Northern Kenya. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 116, p. S7-S8, 2022. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.12.016

KASELA, Martyna et al. Management of milking wastewater as a significant control point of microbial pollution in the environment. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. DOI: 10.26444/aaem/208761

KAUR, JaSpal et al. Modified double disc synergy test to detect ESBL production in urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 7, n. 2, p. 229, 2013. DOI: 10.7860/JCDR/2013/4619.2734

KERLUKU, Maksud et al. Phenotypic and genotypic analysis of antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from dairy cows' feces. **Processes**, v. 11, n. 7, p. 1929, 2023. DOI: 10.3390/pr11071929

KIKUCHI, Masato et al. Antimicrobial use and its association with the presence of methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing coliforms in mastitic milk on dairy farms in the Chiba Prefecture, Japan. **Heliyon**, v. 8, n. 12, 2022. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e12381

KOJO WOODE, Benjamin et al. Microbiological quality of bulk tank raw milk from two dairy farms in Hajdú-Bihar County, **Hungary**. 2018. DOI: 10.34101/actaagrar/75/1655

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

KOVAČEVIĆ, Zorana et al. Is there a relationship between antimicrobial use and antibiotic resistance of the most common mastitis pathogens in dairy cows?. **Antibiotics**, v. 12, n. 1, p. 3, 2022. DOI: 10.3390/antibiotics12010003.

LATORRE, Alejandra A. et al. Biofilms in hoses utilized to divert colostrum and milk on dairy farms: A report exploring their potential role in herd health, milk quality, and public health. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 969455, 2022. DOI: 10.3389/fvets.2022.969455

LEAL, Dyhogo Henrique Veloso et al. A principal component analysis required in technical assistance guidance for chilled raw milk producers. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 44, p. e55570, 2022. DOI: 10.4025/actascianimsci.v44i1.55570

LOPES, Tamiris S. et al. Species identification and antimicrobial susceptibility profile of

bacteria associated with cow mastitis in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 42, p. e06958, 2022. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-6958

LÓPEZ-CARLOS, Marco Antonio et al. Effect of milking hygiene, herd size, water hardness and temperature-humidity index on milk quality of dairy farms. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 52, p. e20210189, 2023. DOI: 10.37496/rbz5220210189

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

MAHMOUDI, Peyman; RASHIDI, Amir; FARAJ, Skala Idrees Hama. Network meta-analysis of the prevalence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from bovine milk and dairy products: A global perspective. **Journal of Dairy Science**, 2025. DOI: 10.3168/jds.2024-26197

MAINDA, Geoffrey et al. Prevalence and patterns of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolated from Zambian dairy cattle across different production systems. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 12439, 2015. DOI: 10.1038/srep12439

MASSÉ, Jonathan et al. Prevalence of antimicrobial resistance and characteristics of *Escherichia coli* isolates from fecal and manure pit samples on dairy farms in the province of Québec, Canada. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, p. 654125, 2021. DOI: 10.3389/fvets.2021.654125

MAULANA, Kusnul Yuli et al. Antimicrobial resistance characteristics of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* from dairy farms in the Sleman district of Yogyakarta province, Indonesia: <https://doi.org/10.12982/VIS.2021.041>. **Veterinary Integrative Sciences**, v. 19, n. 3, p. 525-535, 2021. DOI: 10.12982/VIS.2021.041

MERZOUKI, Mohamed et al. Microbiological Characteristics of Raw Cow Milk in Beni Mellal Area (Morocco). **International Journal of Science and Engineering Applications**, 2017. DOI: 10.7753/IJSEA0610.1006

MESQUITA, Alan A. et al. Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae:

prevalence, resistance to antimicrobials, and their relationship with the milk quality of dairy cattle herds in Minas Gerais state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, p. 308-316, 2019. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5821

MOHAMED, Faisal Said; FARAH, Ahmed Ali. Bacteriological quality assessment of milk in College of Veterinary Medicine (CVM) dairy farm and kalamino dairy farm in Mekelle, Tigray, Ethiopia. **Dairy and Vet. Sci. J**, v. 8, n. 2, p. 1-8, 2018. DOI: 10.19080/JDVS.2018.08.555734

MOHAMED, Sotohy Ahmed et al. Prevalence and Antibigram profiles of STEC strains isolated from raw cow's milk in New-Valley Governorate, Egypt. **SVU-International Journal of Veterinary Sciences**, v. 5, n. 1, p. 31-46, 2022. DOI: 10.21608/svu.2022.105577.1163

MÜLLER, Thais; MACIEL, Mônica Jachetti; REMPEL, Claudete. Physicochemical and microbiological quality of bovine milk from Vale do Taquari in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 23, p. e-72986, 2022. DOI: 10.1590/1809-6891v23e-72986E

NAHAR, Azimun et al. Molecular characterization and antibiotic resistance profile of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from healthy cow raw milk in smallholder dairy farms in Bangladesh. **Veterinary World**, v. 16, n. 6, p. 1333, 2023. DOI: 10.14202/vetworld.2023.1333-1339

NOGARA, Karise Fernanda et al. Influence of the seasons on the quality and composition of milk from dairy farms in the northern region of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 23, p. e72795, 2022. DOI: 10.1590/1809-6891v23e-72795E

NÜESCH-INDERBINEN, Magdalena et al. Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* and prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in calves from organic and conventional dairy farms in Switzerland. **Microbiologyopen**, v. 11, n. 2, p. e1269, 2022. DOI: 10.1002/mbo3.1269

NYOKABI, Simon N. et al. Milk quality along dairy farming systems and associated value chains in Kenya: An analysis of composition, contamination and adulteration. **Food Control**, v. 119, p. 107482, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107482

OBAIDAT, Mohammad M. et al. Major diseases, extensive misuse, and high antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in large-and small-scale dairy cattle farms in Jordan. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 3, p. 2324-2334, 2018. DOI: 10.3168/jds.2017-13665

OLIVEIRA-FILHO, Eduardo C. et al. Proposal for a Water Quality Index for Supplying Rural Communities in the Brazilian Federal District. **Hydrology**, v. 12, n. 9, p. 233, 2025. DOI: 10.3390/hydrology12090233

OLIVER, Jason P. et al. Invited review: Fate of antibiotic residues, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes in US dairy manure management systems. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 2, p. 1051-1071, 2020. DOI: 10.3168/jds.2019-16778

OUAMBA, Alexandre JK et al. Graduate Student Literature Review: Farm management practices: Potential microbial sources that determine the microbiota of raw bovine milk. **Journal of dairy science**, v. 105, n. 9, p. 7276-7287, 2022. DOI: 10.3168/jds.2021-21758

PAIXÃO, Marcel Gomes et al. Milk quality and financial management at different scales of production on dairy farms located in the south of Minas Gerais state, Brazil. **Revista Ceres**, v. 64, n. 3, p. 213-221, 2017. DOI: 10.1590/0034-737X201764030001

PENATI, Martina et al. Multidrug-resistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in a dairy herd: distribution and antimicrobial resistance profiles. **Antibiotics**, v. 13, n. 3, p. 241, 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13030241

QUINTEIRA, Sandra et al. Dairy Cattle and the Iconic Autochthonous Cattle in Northern Portugal Are Reservoirs of Multidrug-Resistant *Escherichia coli*. **Antibiotics**, v. 13, n. 12, p. 1208, 2024. DOI: 10.3390/antibiotics13121208

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, 2024. <https://www.r-project.org/>

ROBINSON, R. K. Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products. 3. ed. New York: Wiley-Interscience, 2002.

ROCHA, Francini Martins et al. Influence of good practices training and milking systems on standard plate count of dairy properties in a municipality in the interior of São Paulo state. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 18, 2024. DOI: 10.18011/bioeng.2024.v18.1245

ROOMI, Ishrat et al. Hygienic production practices and microbial evaluation of cow milk quality in District Gilgit. **International Journal of Pathology**, v. 22, n. 2, p. 46-54, 2024. DOI: 10.59736/IJP.22.02.893

RSTUDIO TEAM. **RStudio: Integrated Development Environment for R**. RStudio, PBC, 2020. <http://www.rstudio.com/>

SAMTIYA, Mrinal et al. Antimicrobial resistance in the food chain: trends, mechanisms, pathways, and possible regulation strategies. **Foods**, v. 11, n. 19, p. 2966, 2022. DOI: 10.3390/foods11192966

SARBA, Edilu Jorga et al. Occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157 isolated from cow milk and milk products, Ethiopia. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 16018, 2023. DOI: /10.1038/s41598-023-43043-8

SCHEIB, Sabrina et al. Intermediate cluster disinfection: which disinfection solution is most effective on milking liners? A comparison of microorganism reduction on liner inner surfaces using quantitative swab sampling technique. **Pathogens**, v. 12, n. 4, p. 560, 2023. DOI: 10.3390/pathogens12040560

SHOAIB, Muhammad et al. The emergence of multi-drug resistant and virulence gene carrying *Escherichia coli* strains in the dairy environment: a rising threat to the environment, animal, and public health. **Frontiers in microbiology**, v. 14, p. 1197579, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1197579

SILVA, Neusely da; et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4.ed, 624 p. São Paulo: Livraria Varela, 2010.

SOARES, Ana Sofia et al. Occurrence of coliforms and enterococcus species in drinking water samples obtained from selected dairy cattle farms in Portugal. **Agriculture**, v. 13, n. 4, p. 885, 2023. DOI: 10.3390/agriculture13040885

SOARES, Karla Danielle Almeida et al. Qualidade microbiológica do leite *in natura*: tanques de expansão comunitários em Alagoas. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 09, Ed. 02, Vol. 02, pp. 05-17. Fevereiro de 2024. DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/agronomia/qualidade-microbiologica

SOUTELINO, Maria Eduarda Marques et al. Economic and production aspects of milking management in dairy farming. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 16, n. 2, 2022. DOI: 10.21708/avb.2022.16.2.10822

TETENS, Julia L. et al. Selection of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in dairy calves associated with antibiotic dry cow therapy—A cohort study. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 12, p. 11449-11452, 2019. DOI: 10.3168/jds.2019-16659

TONA, G. O. A Global Overview of the Intensification of Beef and Dairy Cattle Production Systems. **In Intensive Animal Farming – A Cost-Effective Tactic**. IntechOpen, 2022. DOI: 10.5772/intechopen.106062

VAN Os, W., Wulkersdorfer, B., Eberl, S., Oesterreicher, Z., Schwabl, P., Reiberger, T., Paternostro, R., Weber, M., Willinger, B., & Zeitlinger, M. Bacterial growth and ceftriaxone activity in individual ascitic fluids in an in vitro model of spontaneous bacterial peritonitis. **Frontiers in Pharmacology**, 14(March), 1–7, 2023. DOI: 10.3389/fphar.2023.1124821

VELOO, Yuvaneswary et al. Prevalence and Antimicrobial Resistance Patterns of *Escherichia Coli* in the Environment, Cow Dung, and Milk of Selangor Dairy Farms. **Antibiotics**, v. 14, n. 2, p. 137, 2025. DOI: 0.3390/antibiotics14020137

VIJAY, Deepthi et al. Prevalence, antimicrobial resistance and biofilm forming ability of *Escherichia coli* in milk, animal handlers and slurry samples from dairy herds of Punjab, India. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12, p. 1553468, 2025. DOI: 10.3389/fvets.2025.1553468

WANG, Hailun et al. Identification and distribution of antibiotic resistance genes and antibiotic resistance bacteria in the feces treatment process: A case study in a dairy farm, China. **Water**, v. 16, n. 11, p. 1575, 2024. DOI: 10.3390/w16111575

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York, 2016. <https://ggplot2.tidyverse.org>

WIDODO, Ismiarti; SURANINDYA, Y. Y. Microbiological Qualities of goat milk obtained under different milking systems at a smallholder dairy farm in Yogyakarta, Indonesia. **Int J Dairy Sci**, v. 14, n. 1, p. 29-35, 2019. DOI: 10.3923/ijds.2019.29.35

WILSON, Tara et al. Tracking the microbial communities from the farm to the processing facility of a washed-rind cheese operation. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1404795, 2024. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1404795

APÊNDICE A

RMLeite FAPEMIG	FORMULÁRIO DE CADASTRO - PROPRIEDADE RURAL		InsPoa - DVT - UFV
			Elaborado em: 20/12/23
			Etapa: Coleta de amostras
NOME DA PROPRIEDADE:		CÓDIGO:	
ENDEREÇO:			
QUESTIONÁRIO			
1	Qual o volume de leite produzido diariamente?		
2	Quantos animais em ordenha ?		
3	Qual a média diária de produção dos animais?		
4	Qual o modelo de criação dos animais?		
5	Qual a base da alimentação dos animais ?		
6	Qual a raça predominante dos animais?		
7	Qual o tipo de ordenha utilizado?		
8	Qual o tipo de resfriador de leite utilizado?		
9	Realiza pré-dipping e pós-dipping?		
10	Realiza descarte dos 3 primeiros jatos de leite ?		
11	Quais os principais antimicrobianos utilizados na propriedade ?		
12	Qual o destino do leite produzido?		
13	Qual o destino do leite de descarte?		
14	Quais os produtos utilizados na higienização dos utensílios?		
15	Qual a origem da água utilizada no curral ?		
16	A água recebe algum tipo de tratamento? Qual?		
17	Qual o destino da água residual?		
18	A água residual recebe algum tipo de tratamento?		
OBSERVAÇÕES:			
Data:			
		Assinatura do responsável pelo preenchimento	