

**COMO CITAR:**

Ulsenheimer BC, Caduri TM, Dalla Rosa SK, Viero LM, Viana LR. Perfil bioquímico e de sensibilidade de *Escherichia coli* isoladas de leite mastítico bovino. Rev Contexto & Saúde, 2022;22(46):e10935

## Perfil Bioquímico e de Sensibilidade de *Escherichia Coli* Isoladas de Leite Mastítico Bovino

Bruna Carolina Ulsenheimer<sup>1</sup>, Tatiana Melina Caduri<sup>2</sup>,  
Silvana Konageski Dalla Rosa<sup>3</sup>, Luciana Mori Viero<sup>4</sup>, Luciane Ribeiro Viana<sup>5</sup>

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência, o comportamento bioquímico e o perfil de sensibilidade e resistência das cepas de *Escherichia coli*, isoladas na Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (RS). Foram analisadas 919 amostras de leite mastítico provenientes da Região Noroeste do Estado do RS e realizou-se o exame de cultura bacteriana, bioquímico e antibiograma no Laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí. Para a cultura foi realizada a semeadura do leite em ágar sangue ovino 5% e ágar MacConkey. Desenvolveu-se os seguintes testes bioquímicos: produção de gás sulfídrico e de indol, motilidade, citrato, produção de urease, além dos testes de fermentação de carboidratos (glicose, arabinose, lactose, manose, manitol, sorbitol, sacarose e trealose). Quanto ao antibiograma, alíquotas de leite foram espalhadas em ágar Mueller Hinton, e, sobre esta, foram dispostos discos de antibióticos. Observou-se, nesta pesquisa, que a *Escherichia coli* foi uma das bactérias com maior prevalência na região estudada. O perfil bioquímico encontrado foi de alta positividade para os testes de glicose, lactose, maltose, manitol, sorbitol, sacarose e trealose. Esta bactéria demonstrou maior sensibilidade antimicrobiana para a enrofloxacin (92%), ciprofloxacina (85%) e gentamicina (82%), e resistência para a penicilina (95%), ampicilina (86%) e eritromicina (80%). É possível verificar que mastites causadas por *Escherichia coli* representam um entrave à produção leiteira pelo grande impacto causado ao setor, tanto econômico quanto sanitário, além dos riscos ocasionados à saúde pública.

**Palavras-chave:** saúde pública; microbiologia; mastite; bactérias; diagnóstico.

### BIOCHEMICAL AND SENSITIVITY PROFILE OF *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM BOVINE MASTITIC MILK

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the prevalence, biochemical behavior and the profile of sensitivity and resistance of *Escherichia coli* strains isolated in the Northwest region of the State of Rio Grande do Sul (RS). A total of 919 samples of mastitic milk from the Northwest region of the State of RS were analyzed. Bacterial culture, biochemical and antibiogram tests were carried out at the Laboratory of Veterinary Microbiology at Unijuí. For the culture, was carried out to the sow of milk in sheep blood agar 5% and in MacConkey agar. The following biochemical tests were developed: hydrogen sulphide and indole gas production, motility, citrate, urease production, in addition to carbohydrate fermentation tests (glucose, arabinose, lactose, mannose, mannitol, sorbitol, sucrose and trehalose). As for the antibiogram, aliquots of milk were spread on Mueller Hinton agar, and the antibiotic discs were placed on this. It was observed in this research that *Escherichia coli* was one of the most prevalent bacterium in the studied region. The biochemical profile found was highly positive for glucose, lactose, maltose, mannitol, sorbitol, sucrose and trehalose tests. This bacterium showed greater antimicrobial sensitivity to enrofloxacin (92%), ciprofloxacin (85%) and gentamicin (82%), and resistance to penicillin (95%), ampicillin (86%) and erythromycin (80%). It is possible to verify that mastitis caused by *Escherichia coli*, represents an obstacle to milk production, due to the great impact caused to the sector, both economic and sanitary, in addition to the risks caused to public health.

**Keywords:** public health; microbiology; mastitis; bacteria; diagnosis.

Recebido em: 11/6/2020

Aceito em: 17/3/2022

<sup>1</sup> Autor correspondente: Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. Av. Roraima nº 1000 – Cidade Universitária – Bairro Camobi, Santa Maria/RS, Brasil. CEP 97105-900. <http://lattes.cnpq.br/8701658024732179>. <http://orcid.org/0000-0003-3366-2062>. [bru.brunna@hotmail.com](mailto:bru.brunna@hotmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <http://lattes.cnpq.br/2307638281793430>. <https://orcid.org/0009-0002-6102-1430>.

<sup>3</sup> Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <http://lattes.cnpq.br/2231775841525938>. <https://orcid.org/0000-0001-6711-1504>.

<sup>4</sup> Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <http://lattes.cnpq.br/5529382383101358>. <https://orcid.org/0000-0002-8273-6147>.

<sup>5</sup> Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Ijuí/RS, Brasil. <http://lattes.cnpq.br/4040008113980802>. <https://orcid.org/0000-0003-4699-1893>.

## INTRODUÇÃO

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria pertencente à família das *Enterobacteriaceae*. São bastonetes gram-negativo, cilíndricos retos, com extremidades arredondadas de 0,5 µm de diâmetro e 1,0 a 3,0 µm de comprimento<sup>1</sup>. Caracteriza-se bioquimicamente por ser uma bactéria fermentadora de lactose, oxidase negativa, além de facultativamente anaeróbica, podendo ser móvel e catalase positivo<sup>2</sup>.

Este microrganismo encontra-se amplamente disseminado na natureza, à qual pertence a flora bacteriana entérica de animais e seres humanos<sup>3</sup>. Em animais é o agente responsável por enfermidades, como colibacilose, diarreia neonatal, infecções urinárias, mastite clínica e doença do edema<sup>1,2</sup>.

A bactéria é encontrada em esterco, urina, camas e no ambiente de permanência dos animais. Além disso, as enterobactérias são consideradas importantes agentes causadores de mastites ambientais em bovinos leiteiros, e a *E. coli* destaca-se em virtude do quadro clínico infeccioso severo causado<sup>4</sup>, sendo considerada responsável por quadros de mastite clínica severos, além de se manifestar em rebanhos bem manejados e com baixa contagem de células somáticas<sup>4,5</sup>.

A mastite caracteriza-se por um processo inflamatório da glândula mamária e, etiologicamente, trata-se de uma doença complexa de caráter multifatorial. Além de envolver o patógeno, também é afetada pelo ambiente e fatores inerentes ao animal<sup>6</sup>. Acomete todas as espécies animais, porém é mais comum a sua ocorrência em vacas leiteiras e, inclusive, é considerada uma doença economicamente importante à indústria leiteira<sup>7</sup>, responsável por causar modificações na composição do leite *in natura*<sup>6</sup>.

A qualidade do leite destaca-se sob o ponto de vista de saúde pública, estando condicionada a uma série de fatores produtivos e tecnológicos, dependentes de todos os agentes envolvidos no processo<sup>8,9</sup>. Apesar da posição de produção leiteira de destaque no cenário internacional, o Brasil ainda apresenta baixo nível de qualidade do produto, principalmente microbiológica<sup>10</sup>.

Além da preocupação com a qualidade do leite consumido pela população, outro importante fator a ser considerado, visando à saúde pública, é com relação à ascensão dos níveis de resistência antimicrobiana, fator que é transmitido às pessoas por intermédio do consumo de leite e derivados<sup>11</sup>.

Dada a importância deste patógeno à saúde pública, o objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência, o comportamento bioquímico, bem como o perfil de sensibilidade e resistência das cepas de *Escherichia coli*, isoladas de leite mastítico bovino, nos últimos anos na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se um estudo retrospectivo sobre a prevalência e o perfil bioquímico da *Escherichia coli*, isolada de leite mastítico bovino. As amostras de leite eram provenientes da região Noroeste do Estado do Rio Grande



do Sul, maior bacia leiteira do Estado, coletadas por médicos veterinários e produtores rurais de propriedades de pequeno, médio e grande porte para o diagnóstico microbiológico de mastite. Foram analisadas 919 amostras de leite por um período de 6 anos, compreendido entre 2012 e 2018, no Laboratório de Microbiologia Veterinária (Lamivet) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (Unijuí).

As amostras de leite foram coletadas de forma individual de cada bovino, realizada manualmente, com jatos de leite retirados diretamente do teto afetado. A coleta foi obtida de animais que apresentaram sinais de mastite clínica, com presença de grumos no leite, em frasco estéril, na quantidade de 50 ml, acondicionado sob refrigeração.

Após o recebimento das amostras no laboratório, cada uma foi identificada e iniciaram-se as análises laboratoriais. As análises de cultivo e identificação bacteriana foram realizadas conforme Becton Dickinson<sup>12</sup>. Cada amostra de leite foi semeada em meio específico (ágar sangue ovino 5% e ágar MacConkey) e incubada a 36°C em estufa bacteriológica por um período de 48 horas. Após este período foi feita uma observação visual das colônias crescidas nos meios de cultura, considerando as colônias que se apresentaram em número igual ou superior a cinco; quantidades inferiores a esta não foram incluídas na pesquisa, sendo consideradas contaminação.

Posteriormente realizou-se a confecção de esfregaços em lâmina e coloração de Gram para a primeira identificação morfo-tintorial. Após a coloração de Gram, a lâmina foi examinada em microscópio óptico, quando se observou as características morfológicas do microrganismo. Em seguida as amostras foram transferidas para meios de cultura selecionados de acordo com as características morfológicas. Para a determinação de bacilos gram-negativos, como é o caso da bactéria estudada (*E. coli*), procedeu-se os testes bioquímicos para a produção de gás sulfídrico e de indol, motilidade (SIM), utilização de citrato como única fonte de carbono e produção de urease, além dos testes de fermentação de carboidratos (glicose, arabinose, lactose, manose, manitol, sorbitol, sacarose e trealose). Estes meios selecionados contêm substâncias que evidenciam o metabolismo e a presença de enzimas, possibilitando a identificação do gênero e espécie bacteriana presentes na amostra de leite.

Logo em seguida ao processo de identificação foi realizado o antibiograma por meio do teste de disco-difusão antimicrobiana, segundo Kirby e Bauer<sup>13</sup>, com antibióticos amplamente utilizados em bovinos leiteiros, portanto os selecionados foram: ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), cefalexina (30 µg), cefalotina (30 µg), eritromicina (15 µg), enrofloxacin (5 µg), gentamicina (10 µg), norfloxacin (10 µg), penicilina (10 UI), sulfazotrim (25 µg) e tetraciclina (30 µg).

Nesta técnica a suspensão padronizada do organismo em teste foi espalhada na superfície do meio de cultura. O antimicrobiano, impregnado em um disco de papel de filtro, foi colocado sobre o meio de cultura inoculado com a suspensão bacteriana, onde difundiu-se, formando um gradiente de concentração. Estas placas foram mantidas em estufa bacteriológica a 36°C por 24 horas.



Após o período de incubação foi realizada a mensuração do tamanho dos halos de inibição do crescimento bacteriano em volta dos antibióticos, utilizando régua milimétrica, classificando-se cada antimicrobiano em sensível, quando demonstrou eficiência no combate a bactéria, intermediário, para ação parcial, e resistente, quando não apresentou ação antimicrobiana eficiente sobre a bactéria.

Foram considerados, portanto, tamanho do halo de inibição segundo Kirby e Bauer<sup>13</sup> e Laborclin<sup>14</sup>, classificando os antibióticos, com tamanho de halo igual ou superior ao de referência, como sensível (S), intermediário (I) e resistente (R) respectivamente: ampicilina (S  $\geq$ 17mm, I =14-16mm, R  $\leq$ 13mm), ciprofloxacina (S  $\geq$ 26mm, I =22-25mm, R  $\leq$ 21mm), cefalotina (S  $\geq$ 18mm, I =15-17mm, R  $\leq$ 14mm), eritromicina (S  $\geq$ 23mm, I = 14-22mm, R  $\leq$ 13mm), gentamicina (S  $\geq$ 15mm, I = 13-14mm, R  $\leq$ 12 mm), norfloxacina (S  $\geq$ 17mm, I= 13-16mm, R  $\leq$ 12mm), penicilina (S  $\geq$ 15mm, R  $\leq$ 14mm), sulfazotrim (S  $\geq$ 17mm, I= 13-16mm, R  $\leq$ 12mm) e tetraciclina (S  $\geq$ 15mm, I= 12-14, R  $\leq$ 11).

Fez-se a coleta e análise dos dados obtidos no laboratório, observando-se a quantidade de amostras avaliadas, a prevalência da *Escherichia coli*, o perfil bioquímico e o seu perfil de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos.

## RESULTADOS

A *Escherichia coli* foi uma das bactérias com maior prevalência dentre todas as bactérias encontradas nesta amostragem. Do total de 919 amostras analisadas foi isolado *Escherichia coli* em 101 amostras de leite bovino mastítico, representando uma frequência de 11% com relação ao total de amostras analisadas.

O perfil bioquímico apresentado pelas amostras analisadas demonstrou maior porcentagem de positividade (acima de 90%) para os testes da glicose, lactose, maltose, manitol, sorbitol, sacarose e trealose, e alta negatividade (acima de 50%) da *E. coli* para os testes de urease, motilidade, citrato e H<sub>2</sub>S. Os resultados obtidos sobre o perfil bioquímico das amostras de *E. coli* estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Perfil bioquímico de isolados de *E. coli* (n=75)

TESTES	RESULTADOS	
	Positivos (%)	Negativos(%)
Glicose	97	3
Arabinose	76	24
Lactose	92	8
Maltose	99	1
Manitol	93	7
Sorbitol	92	8
Sacarose	91	9
Trealose	96	4
Citrato	47	53
H <sub>2</sub> s	49	51
Indol	52	48
Motilidade	43	57
Urease	40	60

Fonte: Os autores.



O perfil de sensibilidade das cepas de *Escherichia coli* isoladas no laboratório ante os antimicrobianos testados, está demonstrado na Tabela 2. Encontrou-se a maior porcentagem de sensibilidade para a enrofloxacina com 92%, na sequência 85% para a ciprofloxacina, 82% de sensibilidade para a gentamicina e norfloxacina, 53% para o sulfazotrim e, por último, 46% de sensibilidade para a tetraciclina.

Em contraponto, o perfil de resistência antimicrobiana à *E. coli* demonstrou que a penicilina foi o antibiótico com a maior resistência, ao equivalente de 95% de resistência, seguido da ampicilina com 86%, eritromicina com 80%, cefalotina com 55% e cefalexina com 48% de resistência.

Tabela 2 – Perfil de sensibilidade de isolados de *E. coli* (n=101)

ANTIBIÓTICO	SENSIBILIDADE (%)
Enrofloxacina	92
Ciprofloxacina	85
Gentamicina	82
Norfloxacina	82
Sulfazotrim	53
Tetraciclina	46

Fonte: Os autores.

O perfil de resistência das cepas da bactéria *Escherichia coli*, isoladas no Laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí, está representado na Tabela 3.

Tabela 3 – Perfil de resistência de isolados de *E. coli* (n=101)

ANTIBIÓTICO	RESISTÊNCIA (%)
Penicilina	95
Ampicilina	86
Eritromicina	80
Cefalotina	55
Cefalexina	48

Fonte: Os autores.

## DISCUSSÃO

A alta ocorrência de mastites causadas pela *Escherichia coli* na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, representada pela posição de terceira bactéria com maior prevalência, demonstra sua ampla disseminação na região, o que preocupa os envolvidos com o setor leiteiro, uma vez que esta bactéria é responsável por causar mastite clínica em bovinos, infecção que pode perdurar ao longo de todo o período de lactação, quando muitos casos são recorrentes e voltam a se repetir e, ainda, por se tratar de uma bactéria ambiental de difícil tratamento<sup>11,15</sup>.



Com relação ao perfil de sensibilidade, foi possível observar que a *E. coli* apresentou um percentual de sensibilidade alto para alguns antibióticos, como para enrofloxacina e ciprofloxacina, principalmente para esta região estudada. Casanova et al.<sup>16</sup>, porém, em estudo realizado com amostras de leite obtidas da região oeste de Santa Catarina, descreveram alta sensibilidade à tetraciclina, com 83%.

Já Ribeiro et al.<sup>17</sup> analisaram amostras de leite coletadas em São Paulo e encontraram alta sensibilidade para o antimicrobiano polimixina B (97,5%) e norfloxacina (95,8%). Também da região de São Paulo, Freu et al.<sup>18</sup> observaram altos níveis de sensibilidade para o ceftiofur (96,8%), demonstrando níveis de sensibilidade variados dependendo da região estudada.

O perfil de resistência aos antimicrobianos encontrado neste trabalho foi preocupante, demonstrando quase 100% de resistência para alguns antibióticos, como para a penicilina, e menos de 90% para a ampicilina e a eritromicina, demonstrando a alta ineficácia destes antibióticos para o tratamento de mastites em bovinos leiteiros na região onde foi desenvolvida a pesquisa. Em trabalho desenvolvido por Casanova et al.<sup>16</sup> também foi encontrada alta resistência (100%) para a ampicilina, fato que ocorreu tanto para Ribeiro et al.<sup>17</sup> quanto para Freu et al.<sup>18</sup>, que, além da resistência para ampicilina, encontraram ainda para a eritromicina, a penicilina, a oxacilina e a pirlimicina. Ribeiro et al.<sup>15</sup> explicam este fenômeno da resistência aos antimicrobianos por linhagens de *E. coli* que ocorre por fenômenos de mutação espontânea e recombinação de genes, resultando em variabilidade genética, o que dificulta o combate da bactéria pelos antibióticos.

O uso indevido ou não racional de antibióticos para o tratamento de mastites em bovinos leiteiros, aumenta a pressão seletiva de estirpes multirresistentes, como as de *E. coli*. Além disso, ocorre a formação de plasmídios, que são segmentos de DNA extracromossomal que se multiplicam independentemente do cromossomo bacteriano, e podem conter várias informações genéticas de propriedades bacterianas, incluindo a resistência aos antimicrobianos, também chamada de plasmídios de resistência (plasmídios R)<sup>15</sup>.

Os testes bioquímicos empregados na microbiologia objetivam a identificação do patógeno bacteriano. Por estarem relacionados à atividade catabólica da bactéria, por meio de um indicador demonstra-se a utilização de um substrato específico<sup>2</sup>. Dentro dos testes estão as provas de fermentação de carboidratos, como a glicose, a lactose, a sacarose e a manose, que determinam a capacidade de um organismo degradá-los para a utilização da glicose resultante como fonte energética<sup>19</sup>. A *Escherichia coli* é caracterizada por apresentar respostas positivas aos testes de fermentação de lactose, glicose, arabinose, manitol, sacarose e trealose<sup>20</sup>.

Esta bactéria apresenta resposta positiva à fermentação de Arabinose. Neste estudo, 74% (n=57) das amostras foram positivas contra 26% (n=18) negativas. Quanto à fermentação de lactose, obteve-se um percentual positivo de 92% das amostras (n=69) e 8% de negatividade (n=6). Quinn et al.<sup>2</sup> afirmam que a principal característica da *E. coli* é a sua capacidade de fermentar lactose. Então, sugere-se que o percentual de análises com resultado negativo pode ter



ocorrido devido a um tempo de leitura muito rápido (24 horas) do resultado dos testes, não levando em consideração que algumas cepas bacterianas podem demorar mais do que outras para fermentar este carboidrato.

A glicose mostrou positividade em 97% (n=73), contra apenas 3% (n=2) negativos. Outros autores encontraram 100% de positividade, como Fortes<sup>21</sup>, em estudo com 261 amostras e Trabulsi e Martinez<sup>20</sup>. Segundo Trabulsi e Martinez<sup>20</sup>, esta bactéria apresenta resposta positiva à fermentação de Arabinose, e neste estudo apenas 74% (n=57) das amostras foram positivas.

Trabulsi e Martinez<sup>20</sup>, bem como Koneman<sup>19</sup>, acreditam que o teste de sorbitol é variável, pois há cepas de *E. coli* que não degradam este carboidrato, como é o caso da cepa O157:H7. Este estudo difere dos resultados encontrados em outros países, pois foram observados resultados negativos para o sorbitol, demonstrando que esta cepa de *E. coli* é um agente causador de mastite. Não se sabe, entretanto, se estes, isolados, são causadores primários de mastite ou se houve alguma contaminação cruzada no momento de coleta com as fezes dos animais<sup>15</sup>.

O teste de Citrato é empregado para determinar se o microrganismo possui capacidade de utilizá-lo como única fonte de carbono na ausência de glicose e lactose<sup>22</sup>. Segundo Madigan et al.<sup>22</sup>, a *Escherichia coli* demonstra resultados negativos para o teste de Citrato. Neste estudo, porém, desenvolvido com amostras da região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, observou-se que 47% (n=35) das amostras demonstraram positividade ao teste, contra 53% (n=40) de testes negativos. Borowicz et al.<sup>23</sup> relatam que, caso o inóculo for muito maciço, os compostos orgânicos dentro das paredes celulares das bactérias que estão morrendo são capazes de liberar carbono e hidrogênio, o que pode levar à produção de um resultado falso-positivo. Já quanto ao teste de Indol, quando é possível verificar a capacidade do microrganismo em degradar o triptofano em Indol, neste trabalho 52% (n=39) das amostras foram positivas para 48% (n=36) negativas.

Os resultados para o teste de produção de gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) demonstraram que 44% (n=42) foram positivos e 56% (n=43) negativos. Madigan et al.<sup>22</sup>, porém, descrevem este microrganismo como sendo H<sub>2</sub>S totalmente negativo. O meio utilizado para tal teste é o SIM, contendo peptona, rica no aminoácido cisteína, e, em caso de hidrólise da cisteína, há liberação de H<sub>2</sub>S; já combinado com o sulfeto de ferro presente no meio, torna este enegrecido, caracterizando o teste positivamente<sup>24</sup>. Esta diferença quanto aos resultados negativos encontrados pode estar ligada ao fato de existirem cepas de *Escherichia coli* que possuem plasmídeos indutores de produção de H<sub>2</sub>S<sup>15</sup>.

Ribeiro et al.<sup>15</sup> afirmam, também, que este plasmídeo é responsável pela produção de urease pela *Escherichia coli*, o que explicaria os resultados obtidos neste estudo, em que 40% (n=30) demonstraram positividade e 60% (n=45) negatividade. A *E. coli*, segundo Pereira et al.<sup>24</sup>, tem como característica resposta negativa ao teste de uréase por não utilizar a ureia como fonte de nitrogênio.





## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *Escherichia coli* tem demonstrado alta ocorrência na região estudada, além de adaptação a alguns meios e consideráveis níveis de resistência a alguns antimicrobianos, demonstrando ser responsável por forte impacto sanitário e econômico ao setor leiteiro da região. Estudos de vigilância bacteriológica, portanto, são importantes métodos para determinar as tendências de sensibilidade microbiana das bactérias. São análises de validade temporal devido à capacidade das bactérias em desenvolver mecanismos de resistência aos antimicrobianos. Essa realidade pressupõe a necessidade de estudos continuados de sensibilidade bacteriana, especialmente para *E. coli*, visando a aumentar a eficiência de protocolos terapêuticos e, conseqüentemente, reduzir riscos à saúde pública.

## REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> Moxley R. Enterobacteriaceae/Escherichia. In: Mcvey DS, Kennedy M, Chengappa MM. Microbiologia veterinária. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017. 64. Cap. 7.
- <sup>2</sup> Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed; 2005.
- <sup>3</sup> Jang J et al. Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications – a review. J Appl Microbiol. 2017;123:570-581.
- <sup>4</sup> Roussel P et al. Escherichia coli mastitis strains: In vitro phenotypes and severity of infection in vivo. PLoS ONE. 2017;12(7):e0178285.
- <sup>5</sup> Zhang J et al. An on-site, highly specific immunosensor for Escherichia coli detection in field milk samples from mastitis-affected dairy cattle. Biosensors & Bioelectronics. 2020;165:112366.
- <sup>6</sup> Moritz F, Moritz CMF. Resistência aos antimicrobianos em Staphylococcus spp. associados à mastite bovina. Revista Ciência Veterinária Saúde Pública. 2016;3(2):132-136.
- <sup>7</sup> Hostetler DE. Sistema Tegumentar. In: Mcvey DS, Kennedy M, Chengappa MM. Microbiologia veterinária. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2017;70:569-570.
- <sup>8</sup> Lange MJ et al. Tipologia de manejo de ordenha: análise de fatores de risco para a mastite subclínica. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2017;37(11):1.205-1.212.
- <sup>9</sup> Baggio AP, Montanhini MTM. Qualidade de leite cru produzido na região do Norte Pioneiro do Paraná. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. 2017;11(2):184-189.
- <sup>10</sup> Arcanjo AHM et al. Programa dos seis pontos de controle da mastite em rebanhos leiteiros. Glob Science and Technology. 2017;10(1):78-88.
- <sup>11</sup> Locatelli C et al. Identification of Multidrug-Resistant Escherichia coli from Bovine Clinical Mastitis Using a Ceftiofur-Supplemented Medium. Foodborne pathogens and disease. 2019;16:590-596.
- <sup>12</sup> Becton, Dickinson and Company. DIFCO & BBL Manual. Manual of Microbiological Culture Media. 2. ed. Sparks, Maryland: Copyright; 2009. Disponível em: <https://www.trios.cz/wp-content/uploads/sites/149/2016/08/DIFCO-A-BBL-MANUAL-2.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2019.
- <sup>13</sup> Kirby, Bauer A. W. Manual para antibiograma, difusão em disco. Laborclin. 2011;5:19-24.
- <sup>14</sup> Laborclin. Manual de Antibiograma. Manual elaborado pela equipe técnica da Laborclin destinado à orientação para execução do teste de sensibilidade a antimicrobianos, segundo o CLSI/2019. Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda. Rev 16 – 3/2019:1-54.
- <sup>15</sup> Ribeiro MG, Leite DS, Siqueira AK. Enfermidades por Escherichia coli. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca; 2018:253-259. Cap. 25.





- <sup>16</sup> Casanova VP et al. Bovine mastitis: prevalence and antimicrobial susceptibility profile and detection of genes associated with biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Semina Ciências Agrárias*. 2016;37(3):1.369-1.378.
- <sup>17</sup> Ribeiro MG et al. Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2006;58(5):724-731.
- <sup>18</sup> Freu G et al. Sensibilidade aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isolada de mastite clínica. XI Simpósio de Pós-Graduação e Pesquisa em Nutrição e Produção Animal-VNP, São Paulo; 2017.
- <sup>19</sup> Koneman. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012:760-834.
- <sup>20</sup> Trabulsi LR, Martinez MB. *Haemophilus influenzae* e outras espécies do gênero. *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu; 2004.
- <sup>21</sup> Fortes RV et al. Propylene glycol or monensin on diets of dairy cows during the transition period: udder health, milk yield and composition. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2008;60(1):179-184.
- <sup>22</sup> Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. *Microbiologia de Brock*. 12. ed. São Paulo: Artmed; 2010.
- <sup>23</sup> Borowicz S et al. O ensaio de formação de colônias de agar mole. *Journal of Visualized Experiments- JoVE*. 2014;(92):51998.
- <sup>24</sup> Pereira SCL et al. Resistência a antibióticos e presença de plasmídeos em enterobactérias e *Staphylococcus aureus* isoladas do setor de dietética de um hospital público. *O Mundo da Saúde*. 2015;39(2):147-156.



Todo conteúdo da Revista Contexto & Saúde está  
sob Licença Creative Commons CC - By 4.0