

**Evento:** XX Jornada de Extensão

**PERFIL BIOQUÍMICO DE ESCHIRICHIA COLI ISOLADAS DE LEITE  
MASTÍTICO BOVINO<sup>1</sup>  
ESCHERICHIA COLI BIOCHEMICAL PROFILE ISOLATED FROM BOVINE  
MASTITIC MILK**

**Bruna Carolina Ulsenheimer<sup>2</sup>, Tatiana Melina Caduri<sup>3</sup>, Silvana Konageski  
Dalla Rosa<sup>4</sup>, Luciane Ribeiro Viana Martins<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Pesquisa desenvolvida no Laboratório de Microbiologia Veterinária da Unijuí

<sup>2</sup> Aluna do curso de Medicina Veterinária da Unijuí, com formação conjunta com a Universidade do Porto

<sup>3</sup> Médica Veterinária graduada pela Unijuí

<sup>4</sup> Graduada em Ciências Biológicas pela Unijuí

<sup>5</sup> Professora Mestre do curso de graduação de Medicina Veterinária da Unijuí

## **INTRODUÇÃO**

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é um microrganismo pertencente à família das *Enterobacteriaceae*, possui formato bacilar, gram-negativo, fermentador de lactose, oxidase negativa, facultativamente anaeróbios, móveis ou não, catalase positivo. Microrganismo com ampla disseminação na natureza, que faz parte da microbiota intestinal de humanos e animais. Em animais, é o agente responsável por enfermidades como colibacilose, diarreia neonatal, infecções urinárias e mastite clínica (QUINN et al, 2005). *E.coli* é um dos agentes causadores de mastite ambiental, se encontra presente no esterco, urina, nas camas e no ambiente de permanência dos animais. É responsável por quadros de mastite clínica e geralmente se manifesta em rebanhos bem manejados e com baixa contagem de células somáticas (FONSECA E SANTOS, 2000).

Dada a importância deste patógeno a saúde pública, o objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento bioquímico das amostras de *Escherichia coli* isolados no Laboratório de Microbiologia Veterinária.

## **METODOLOGIA**

Realizou-se um estudo retrospectivo sobre o perfil bioquímico da *Escherichia coli* isolada de leite mastítico no Laboratório de Microbiologia Veterinária da UNIJUI (LAMIVET), trazidas por produtores rurais e Médicos Veterinários para realização do diagnóstico microbiológico de mastite. Foram analisadas 919 amostras de leite, de um período entre 2012 e 2018 e a *Escherichia coli* apresentou 11% de prevalência.

**Evento:** XX Jornada de Extensão

Todas as amostras, ao chegarem ao laboratório, foram semeadas em meio àgar nutriente e Macconkey, utilizando alça de platina e posteriormente incubadas em estufa bacteriológica à temperatura de 37°C, por 24 horas. Posteriormente realizou-se a leitura das placas, quanto as características de crescimento das colônias. Em seguida o esfregaço em lâmina com coloração de Gram para análise em microscópio óptico. Na sequência para a determinação de bacilos gram-negativos, procedeu-se os testes bioquímicos, para a produção de gás sulfídrico e de indol, motilidade, utilização de citrato como única fonte de carbono e produção de urease, além do teste de fermentação de carboidratos (Glicose, Arabinose, Lactose, Manose, Manitol, Sorbitol, Sacarose e trealose).

### **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Os resultados obtidos sobre o perfil bioquímico das amostras de *E.coli* estão demonstrados na tabela 1. Tabela 1 - Perfil bioquímico de 75 amostras de *E.coli* isolados no LAMIVET- UNIJUI



**Evento:** XX Jornada de Extensão

TESTES	RESULTADOS	
	Positivos (%)	Negativos (%)
Glicose	97,3	2,67
<u>Arabinose</u>	76	24
Lactose	92	8
Maltose	98,67	1,33
Manitol	93,33	6,67
<u>Sorbitol</u>	92	8
Sacarose	90,67	9,33
<u>Trealose</u>	96	4
<u>Citrato</u>	46,67	53,33
H <sub>2</sub> s	49	51
<u>Indol</u>	52	48
Motilidade	42,6	57,4
<u>Urease</u>	40	60

Fonte: Os autores.

Todos os testes bioquímicos empregados na microbiologia, objetivam a identificação do patógeno bacteriano. Estando relacionados a atividade catabólica da bactéria, onde, através de um indicador, demonstra-se a utilização de um substrato específico (QUINN et al, 2005). Dentro dos testes, estão a provas de fermentação de carboidratos, como a glicose, lactose, sacarose e manose, que determinam a capacidade de um organismo degradá-los para a utilização da glicose resultante como fonte energética (KONEMAN, 2012).

**Evento:** XX Jornada de Extensão

A glicose mostrou positividade em 97,3% (n=73), contra apenas 2,67%(n=2) negativos. Outros autores encontraram 100% de positividade como por Fortes (2008) em estudo com 261 amostras e por Trabulsi e Martinez (2004). Segundo Trabulsi e Martinez (2004) esta bactéria apresenta resposta positiva a fermentação de Arabinose. Neste estudo, apenas 74% (n=57) das amostras foram positivas. Quanto a fermentação de lactose, obteve-se um percentual positivo de 92% das amostras (n=69) e 8% de negatividade (n=6). Quinn et al (2005) afirma que a principal característica da *E.coli* é a capacidade de fermentar Lactose. O número de amostras negativas pode ser resultado de uma leitura muito rápida sem tempo para fermentação deste carboidrato. Trabulsi e Martinez (2004), bem como Koneman (2008) 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 0157:H7. Este estudo difere dos resultados encontrados em outros países, pois encontrou 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 com fezes (TAUXE, 1997).

O teste de Citrato é utilizado para determinar se o microrganismo tem capacidade de utilizá-lo como única fonte de carbono, na ausência de glicose e lactose (MADIGAN et. al., 2010). Segundo Madigan et. al., (2010), a *Escherichia coli* demonstra resultados negativos para o teste de Citrato. Já neste levantamento de dados, observou-se que 46,7 % (n=35) demonstrou positividade ao teste, contra 53,3% (n=40) de testes negativos. Borowicz et. al. (2014) relatam que caso o inóculo for muito maço, os compostos orgânicos dentro das paredes celulares das bactérias que estão morrendo são capazes de liberar carbono e hidrogênio, o que pode levar a produção de um resultado falso-positivo. Já o teste de Indol verifica a capacidade do microrganismo em degradar o triptofano em Indol, neste trabalho 52 %(n=39) das amostras foram positivas contra 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. Porém, Madigan et. al., 2010 descreve este microrganismo como sendo H<sub>2</sub>S totalmente negativo. Na hidrólise da Cisteína, há liberação de H<sub>2</sub>S, que combina com o sulfeto de ferro presente no meio, tornando-o enegrecido, quando positivo (PEREIRA, 2015). Esta diferença quanto aos resultados encontrados pode estar ligada ao fato de existirem cepas de *Escherichia coli* que possuem plasmídeos indutores de produção de H<sub>2</sub>S (TOMPKINS, 1989 *apud* PERCI, 2008). Segundo Pereira (2015), a resposta deve ser negativa ao teste de urease, por não utilizar a ureia como fonte de nitrogênio, porém Tompkins, 1989 *apud* Perci, (2008), afirmam esta bactéria também é responsável pela produção de urease, o que explica os resultados obtidos neste estudo, com 40% (n=30) de positividade e 60% (n=45) de negatividade.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

**Evento:** XX Jornada de Extensão

A mastite clínica causada por *Escherichia coli* é um entrave à produção leiteira, pelo grande impacto causado ao setor, ao desvalorizar o produto, diminuindo a quantidade e a qualidade. Após análise dos testes bioquímicos, a *E.coli*, através de seu complexo metabolismo, demonstrou se adaptar facilmente às mudanças no meio em que se encontra. Sendo assim, ela é capaz de inibir ou ativar determinadas enzimas que possam auxiliar a sua sobrevivência em situações adversas, tanto no organismo quanto no meio ambiente.

**Palavras-chave:** Microbiologia, mastite, bactéria, diagnóstico  
Microbiology, mastitis, bacteria, diagnosis

**Keywords:**

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOROWICZ, S. et al. O ensaio de formação de colônias de agar mole. **JOVE (Journal of Visualized Experiments)** n. 92, p. 51998, 2014.

FONSECA, LFL; SANTOS, MV. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo, Lemos, p.175, 2000.

FORTES, R. V., 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**, v. 60, n. 1, p. 179-184.

KONEMAN, **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**, 6 ed, p.760-834, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**. Editora: Artmed S.A. 12ª Edição. São Paulo, 2010.

PEREIRA, S. C. L., et al. Resistência a antibióticos e presença de plasmídeos em enterobactérias e staphylococcus aureus isoladas. 2015.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. POA, Artmed, 2005.

TRABULSI, L. R. E MARTINEZ, M. B. Haemophilus influenzae e outras espécies do gênero. **Microbiologia**, 2004.

TAUXE, R.V. Doenças transmitidas por alimentos emergentes: um desafio de saúde pública em evolução. **Doenças infecciosas emergentes**, v. 3, n. 4, p. 425, 1997.