

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LUCILENE MARTINS TRINDADE GONÇALVES

**DIARREIAS BACTERIANAS EM BEZERROS LEITEIROS DO ESTADO DO
MARANHÃO**

SÃO LUIS-MA

2021

LUCILENE MARTINS TRINDADE GONÇALVES

**DIARREIAS BACTERIANAS EM BEZERROS LEITEIROS DO ESTADO DO
MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira

SÃO LUIS-MA

2021

Gonçalves, Lucilene Martins Trindade.

Diarreias bacterianas em bezerros leiteiros do estado do Maranhão / Lucilene Martins Trindade Gonçalves. – São Luís, 2021.

48 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira.

1.Diarreias. 2.Bezerros. 3.*Enterobacteriaceae*. I.Título.

CDU: 636.2:616.34-008.314.4(812.1)

LUCILENE MARTINS TRINDADE GONÇALVES
DIARREIAS BACTERIANAS EM BEZERROS LEITEIROS DO ESTADO DO
MARANHÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Aprovado em: 02/08/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira (Orientador)
Universidade Estadual do Maranhão

Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos
Universidade Estadual do Maranhão

Prof. Dra. Isabel Azevedo Carvalho
Universidade Estadual do Maranhão

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer pelo dom da vida e pela oportunidade de crescimento e aprendizado que adquiri ao longo desses anos.

A minha família (incluindo meus cachorros) e meus amigos, por sempre me dar o suporte necessário, e a cada pessoa que contribuiu com a minha jornada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Hélder de Moraes Pereira por todas as oportunidades e apoio que me deu durante esse processo.

Gostaria de nomear as minhas bolsistas de Iniciação Científica Lisa e Kelly, que me ajudaram em cada etapa da execução desse projeto.

A Carol e Wendel que sempre foram um forte apoio e seguiram nessa caminhada junto comigo.

A Jaize e a Catarina que sempre fizeram presentes sempre que eu precisei, e se tornaram grandes amigas.

E a todos os membros do Laboratório de Bacteriologia Clínica Veterinária que me auxiliaram, aos que ainda estão presentes e os que já saíram, mas ainda se fazem presente, como o Leandro.

A Prof. Dra. Isabel Azevedo Carvalho e ao Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos pela orientação e direcionamentos.

E não menos importante, a cada produtor e tratador que disponibilizaram seu tempo e aos seus animais, sem eles seria impossível o êxito nesse trabalho.

Sou grata a todas as experiências, que me permitiram evoluir como pessoa e como profissional.

“Sometimes I feel like giving up,
but I just can't, it isn't in my
blood”.

Shawn Mendes

RESUMO

Este estudo teve como objetivo estabelecer dados sobre a ocorrência dos principais agentes bacterianos envolvidos nas diarreias em bezerros leiteiros do estado do Maranhão e respectivos resultados de antibiograma. As amostras foram coletadas por meio de *swab* retal e foram cultivadas inicialmente em placas de ágar sangue ovino (5%) e ágar MacConkey e posteriormente em ágar *Salmonella-Shigella* e ágar eosina – azul de metileno. Com as colônias obtidas realizou-se a coloração de Gram, os testes bioquímicos e o antibiograma. Foram estudados 10 municípios, com 230 bezerros avaliados, distribuídos entre 20 propriedades. Obteve-se um total de 21 animais com sinais clínicos de diarreia, representando uma frequência de 9,13%. A frequência de propriedades positivas foi de 35% (n=7) e a de municípios de 50% (n=5). As bactérias pertenciam a família *Enterobacteriaceae* sendo 42,9% (n=9) *Escherichia coli*, 23,8% (n=5) *Klebsiella* sp., 14,3% (n=3) *Salmonella* sp., 9,5% (n=2) *Proteus* sp. e 9,5% (n=2) *Enterobacter* sp. No antibiograma todas as bactérias apresentaram resistência a Penicilina G (100%) e a Eritromicina (33% resistente e 67% intermediária) e sensibilidade a Enrofloxacina (5 µcg), Ceftiofur (30 µcg), Cotrimoxazol (25 µcg), Estreptomicina (10 µcg), Florfenicol (30 µcg) e Gentamicina (10 µcg). As fezes desses animais apresentavam consistência pastosa a líquida, de cor marrom, amarela a esverdeada, sem presença de sangue e não foi possível estabelecer um padrão em que se pudesse correlacionar os achados macroscópicos das fezes com seu agente etiológico. Foi possível observar que a diarreia está presente nos bezerros leiteiros do estado do Maranhão, o que evidencia a importância do estudo dessa síndrome no estado, em consequência das condições de higiene e instalações inadequadas, ratificando assim a necessidade da implementação de assistência técnica veterinária. As bactérias encontradas são relevantes tanto para saúde animal quanto para a saúde humana, servindo de alerta à saúde pública, visto que os isolados desse estudo demonstraram resistência *in vitro* a vários antibióticos, culminando no surgimento de superbactérias. Sendo assim, recomenda-se a realização de antibiogramas, quando possível, em tratamentos em que seja recomendado o uso de antibióticos, seguindo a posologia correta.

Palavra-chave: Diarreias. Bezerros. *Enterobacteriaceae*.

ABSTRACT

This study aimed to establish data on the occurrence of the main bacterial agents involved in diarrhea in dairy calves in the state of Maranhão and respective antibiogram results. Samples were collected using a rectal *swab* and were initially cultivated on sheep blood agar (5%) and MacConkey agar plates and later on *Salmonella-Shigella* agar and eosin - methylene blue agar. Gram stain, biochemical tests and antibiogram were performed with the colonies obtained. 10 municipalities were studied, with 230 calves evaluated, distributed among 20 properties. A total of 21 animals with clinical signs of diarrhea were obtained, representing a frequency of 9.13%. The frequency of positive properties was 35% (n=7) and that of municipalities 50% (n=5). The bacteria belonged to the *Enterobacteriaceae* family being 42.9% (n=9) *Escherichia coli*, 23.8% (n=5) *Klebsiella* sp., 14.3% (n=3) *Salmonella* sp., 9.5% (n=2) *Proteus* sp. and 9.5% (n=2) *Enterobacter* sp. In the antibiogram, all bacteria showed resistance to Penicillin G (100%) and Erythromycin (33% resistant and 67% intermediate) and sensitivity to Enrofloxacin (5 µcg), Ceftiofur (30 µcg), Cotrimoxazol (25 µcg), Streptomycin (10 µcg), Florfenicol (30 µcg) and Gentamicin (10 µcg). The feces of these animals had a pasty to liquid consistency, brown, yellow to greenish in color, without the presence of blood and it was not possible to establish a pattern to correlate the macroscopic findings of the feces with its etiological agent. It was possible to observe that diarrhea is present in dairy calves in the state of Maranhão, which highlights the importance of studying this syndrome in the state, as a result of inadequate hygiene and facilities, thus confirming the need to implement veterinary technical assistance. The bacteria found are relevant for both animal and human health, serving as a warning to public health, since the isolates in this study demonstrated in vitro resistance to several antibiotics, culminating in the emergence of superbugs. Therefore, it is recommended to perform antibiograms, when possible, in treatments where the use of antibiotics is recommended, following the correct dosage.

Key Words: Diarrhea. Calves. *Enterobacteriaceae*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa do Maranhão evidenciando a localização dos municípios estudados.....	21
Figura 2 - Coleta de amostra fecal em bezerro utilizando <i>swab</i> estéril com solução salina 0,9%	22
Figura 3 - Fezes líquidas e esverdeadas (A) e fezes pastosas e amareladas (B) obtidas dos bezerros estudados	25
Figura 4 - Bezerro com uma semana de vida apresentando prolapso retal em decorrência da diarreia	26
Figura 5 - Bezerro apresentando diversos ectoparasitas que ficaram evidenciados durante o momento da coleta das amostras de fezes	26
Figura 6 - Bezerros aglomerados em ambiente inadequado, situados em uma propriedade com animais diarreicos	27
Figura 7 - Bezerros se alimentando durante a rotina de ordenha	28
Figura 8 - Reação a coloração de Gram das bactérias da família <i>Enterobacteriaceae</i> evidenciando bastonetes Gram-negativos	28
Figura 9 - Caracterização das colônias sugestivas a <i>Escherichia coli</i> nos meios de cultura ágar sangue ovino (5%) (A), MacConkey (B), eosina-azul de metileno (C) e <i>Salmonella-Shigella</i> (D)	29
Figura 10 – Caracterização das colônias sugestivas a <i>Klebsiella</i> sp. e <i>Enterobacter</i> sp. nos meios de cultura ágar sangue ovino (5%) (A), MacConkey (B), eosina-azul de metileno (C) e <i>Salmonella-Shigella</i> (D)	30
Figura 11 – Caracterização das colônias de sugestivas a <i>Salmonella</i> sp. e <i>Proteus</i> sp. nos meios de cultura ágar sangue ovino (5%) (A), MacConkey (B), eosina-azul de metileno (C) e <i>Salmonella-Shigella</i> (D)	30

Figura 12 – Caracterização das colônias de uma mesma amostra de <i>Proteus</i> sp. em meio de cultura ágar sangue ovino (5%), evidenciando o fenômeno de enxameação.....	31
Figura 13 – Antibiograma dos antibióticos Penicilina G (10 UI), Eritromicina (15 µcg), Enrofloxacina (5 µcg) e Florfenicol (30 µcg) em colônias de <i>E. coli</i>	32
Figura 14 – Mapa do município de Araiões evidenciando a localização das propriedades estudadas, consideradas negativas e positivas para diarreia em bezerros.....	36
Figura 15 – Mapa do município de Bernardo do Mearim evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada positiva para diarreia em bezerros	36
Figura 16 – Mapa do município de Dom Pedro evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada negativa para diarreia em bezerros	37
Figura 17 – Mapa dos municípios de Chapadinha, Itapecuru-Mirim e Vargem Grande evidenciando a localização das propriedades estudadas, consideradas positivas e negativas para diarreia em bezerros	37
Figura 18 – Mapa dos municípios de São José de Ribamar e São Luís evidenciando a localização das propriedades estudadas, consideradas positivas e negativas para diarreia em bezerros	38
Figura 19 – Mapa do município de Lagoa Grande do Maranhão evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada negativa para diarreia em bezerros.....	38
Figura 20 – Mapa do município de São João do Carú evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada positiva para diarreia em bezerros	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação da frequência e número de animais, municípios e propriedades avaliadas	24
Tabela 2 - Frequência do sexo e da faixa etária de bezerros acometidos com diarreia.....	24
Tabela 3 - Frequência e número das características das fezes	25
Tabela 4 - Frequência e número de espécies bacterianas isoladas dos bezerros com diarreia	29
Tabela 5 - Reações bioquímicas nos testes TSI (Triple Sugar Iron), LIA (Lisina Iron Agar), Citrato de Simons, Urease, Indol e Vermelho de Metila (VM)	31
Tabela 6 - Frequência das características fecais relacionadas com as bactérias encontradas em bezerros com diarreia	32
Tabela 7 - Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade geral das bactérias encontradas em bezerros com diarreia	33
Tabela 8 - Tabela 8 – Resultados do antibiograma de cada grupo de bactéria isoladas de bezerros com diarreia	33
Tabela 9 – Tabela 9 – Resultados do antibiograma dos isolados de <i>Escherichia coli</i> encontrados em bezerros com diarreia relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade	34
Tabela 10 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade de das colônias de <i>Proteus sp.</i> encontradas em bezerros com diarreia	34

Tabela 11 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade de das colônias de <i>Klebsiella</i> sp. encontradas em bezerros com diarreia	35
Tabela 12 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade de das colônias de <i>Enterobacter</i> sp. encontradas em bezerros com diarreia	35
Tabela 13 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade de das colônias de <i>Salmonella</i> sp. encontradas em bezerros com diarreia	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Aspectos gerais das diarreias em bezerros	16
3.2 Principais enteropatógenos bacterianos	17
3.3 Diagnóstico	18
3.4 Resistência	19
3.5 Controle e Profilaxia	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO TÉCNICO APLICADO A PESQUISA DE CAMPO	45
APÊNDICE B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO AO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL	47

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do leite exerce papel significativo na economia mundial e envolve diretamente cerca de um bilhão de pessoas, a produção mundial do leite bovino gira em torno dos 600 bilhões de litros por ano (SORIO, 2018). O Brasil ocupa a terceira posição no ranking dos maiores produtores mundiais, o que confirma a importância dessa atividade econômica para o país (FAO, 2019). Em se tratando da região Nordeste, os resultados do IBGE (2020) indicaram que sua participação na produção nacional vem crescendo, ocupando atualmente a terceira posição no ranking.

O Maranhão, atualmente é o quinto maior produtor de leite bovino da região Nordeste (IBGE, 2019), o estado possui potencial para o desenvolvimento de uma pecuária leiteira mais efetiva, principalmente devido a sua localização geográfica. Porém ainda apresenta baixa produtividade, devido à deficiência na implementação de tecnologias, gerando instabilidade na oferta e na renda dos produtores, e ainda enfrenta um mercado altamente competitivo e exigente com a qualidade da matéria-prima (BEZERRA, 2017).

A tríade nutrição, genética e sanidade afeta diretamente a produtividade de um rebanho, que pode ser indicada principalmente pelo número de nascimento de bezerros ao ano, pela produção leiteira e pelo ganho de peso dos animais (OLIVEIRA FILHO, 2016). Os animais estão sujeitos a várias enfermidades que trazem grande prejuízo à produção das propriedades produtoras de leite, por isso deve ser realizado um investimento na área de prevenção de doenças (SALVADOR, 2018).

As doenças que ocorrem no início da vida dos bezerros podem interferir no desenvolvimento e produtividade desses animais quando adultos (VARGAS JÚNIOR, 2015). Além de tentar garantir um maior número de nascimentos ao ano os produtores ainda têm que assegurar que esses animais cresçam e desenvolvam seu potencial genético, amenizando os desafios enfrentados principalmente nas primeiras semanas de vida, visto que a maioria das enfermidades responsáveis por estas perdas apresenta elevada ocorrência, com taxas de morbidade e mortalidade altas (OLIVEIRA FILHO, 2006).

O maior índice de mortalidade ocorre nessa fase de cria, devido a maior vulnerabilidade, principalmente no primeiro mês de vida. Dentre as principais causas de morte em bezerros de raças leiteiras destacam-se as falhas na transferência da imunidade passiva e fornecimento de sucedâneo com formulação inadequada (ASSIS-BRAZIL, 2013). A diarreia é uma das principais enfermidades que afetam os rebanhos bovinos, causando grandes

prejuízos econômicos tanto pela mortalidade, quanto pelos gastos com tratamento e atraso no crescimento (SILVA, 2007).

Pode-se definir a diarreia neonatal como um aumento na frequência de defecação ou no volume fecal, devido a um desequilíbrio na secreção e na absorção (PEREIRA, 2014). É um sinal clínico comum em bezerros jovens, desencadeado por vários microrganismos patogênicos, levando em conta a imunidade, alimentação, condições de higiene, contaminação ambiental, contato de animais sadios com infectados, e também por mudanças na dieta. A morte se dá por conta da desidratação e perda de eletrólitos, e não diretamente pelo agente infeccioso, (MOURA, 2005; MIQUEO, 2016).

Os patógenos envolvidos podem ser bactérias, vírus, fungos, protozoários e helmintos. *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Clostridium perfringens* são os agentes etiológicos bacterianos mais frequentemente envolvidos com esse sinal clínico em bezerros (RADOSTITS *et al.*, 2002). Levando em consideração somente as diarreias de origem bacteriana pode-se observar seus efeitos em decorrência da ação local e sistêmica de enterotoxinas e endotoxinas, bem como a inflamação causada pelo agente etiológico e atrofia das vilosidades intestinais (SILVA, 2007).

O tratamento da diarreia neonatal envolve, de maneira geral, a utilização de antimicrobianos; anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), que possuam ação analgésica e antitérmica como o Flunixin Meglumine ou Meloxicam, além da terapia de suporte que consiste na fluidoterapia para reposição de energia, líquidos e eletrólitos perdidos no quadro de diarreia (RABASSA, 2017). É necessária a manutenção do balanço de água e eletrólitos para normalização da concentração extracelular e facilitar a absorção de sódio e água no intestino (MIQUEO, 2016).

Esta síndrome ainda constitui um alerta à saúde pública, uma vez que falhas no manejo ou tratamento inadequado podem favorecer a uma infecção humana por conta do potencial zoonótico de algum desses agentes bacterianos, sendo causa de infecções de origem alimentar em humanos, além de poder predispor ao surgimento de resistência a antimicrobianos (AZOLA, 2016).

O aumento na produção de bovinos provocou um aumento dos casos de contaminação por agentes patogênicos, aumentando a necessidade do uso de medicamentos, incluindo os antibióticos (GONÇALVES, 2019). O uso generalizado e as vezes indiscriminado dessas drogas levou à seleção de bactérias inerentemente resistentes que

podem transmitir essas informações para outras bactérias levando-as a adquirir resistência por meio dos cromossomos bacterianos ou plasmídeos (QUINN et al., 2005).

Dessa forma, se faz importante o conhecimento acerca da etiologia desta síndrome que possui grande incidência no mundo inteiro, inclusive no Brasil, uma vez que este estudo tem como objetivo estabelecer dados sobre a ocorrência dos principais agentes bacterianos envolvidos nas diarreias em bezerros leiteiros do estado do Maranhão, além da possibilidade de servir de base para estabelecer protocolos de tratamento e prevenção eficazes.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Determinar o agente etiológico bacteriano causador das diarreias em bezerros leiteiros de rebanhos maranhenses.

2.2 Específicos

- Avaliar clinicamente o estado geral dos animais a fim de correlacionar os achados clínicos como: coloração, consistência, odor e presença de estrias de sangue nas fezes, com seu agente etiológico;
- Realizar uma avaliação higiênico-sanitária pela observação das condições de criação;
- Identificar os enteropatógenos bacterianos em fezes diarreicas de bezerros por meio do cultivo microbiológico;
- Determinar a sensibilidade dos enteropatógenos aos agentes antimicrobianos;
- Analisar e georreferenciar a distribuição dos casos de diarreia nos bezerros estudados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais das diarreias em bezerros

A criação de bezerros é uma atividade complexa; devido à vulnerabilidade imunológica desses animais, principalmente no primeiro mês de vida, o número de óbitos aumenta devido à ocorrência de doenças parasitárias e infecciosas. Os patógenos que podem causar essas doenças geralmente são ubíquos, o que significa que esses animais estão inevitavelmente em risco (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

A diarreia é considerada uma das enfermidades mais importantes para essa categoria animal, e possui uma frequência superior em animais leiteiros, visto que geralmente os mesmos são criados separados das mães, recebendo aleitamento artificial e desmamados precocemente quando comparados aos animais de corte. (GASPAR *et al.*, 2016). Gera grandes perdas econômicas para produtores com estimativa mundial que varia entre 20 e 52%, com valores aproximados de US\$33,5 por animal leiteiro e com a mortalidade podendo chegar a 34%. (GONÇALVES, 2019).

Esta síndrome pode ser definida como um aumento no volume ou na frequência de eliminação das fezes, em decorrência de um desequilíbrio nos processos de secreção e absorção (PEREIRA, 2014), que pode ser causado por um ou mais microrganismos patogênicos, ou ter causas não infecciosas. Deve ser levada em conta a imunidade do animal, alimentação, condições de higiene, contato de animais sadios com animais infectados, e também por mudanças na dieta (MOURA, 2005; MIQUEO, 2016).

Em geral, um bezerro com diarreia apresenta fezes moles com consistência que pode variar de pastosa a líquida, podendo possuir ou não odor fétido, apresentando ou não estrias de sangue e alterações na coloração. Na fase inicial pode apresentar febre, inapetência, depressão, orelhas caídas, desidratação, emagrecimento rápido e região perineal e/ou cauda sujos. (CANDIDO; GUERIOS, 2020).

Em se tratando de diarreias bacterianas, seus efeitos ocorrem em decorrência da ação local e sistêmica de enterotoxinas e endotoxinas, associada a inflamação causada pelo agente etiológico e atrofia das vilosidades intestinais (SILVA, 2007). *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Clostridium perfringens* são os agentes etiológicos bacterianos que estão geralmente mais envolvidos com esse sinal clínico em bezerros (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Independentemente do mecanismo, a diarreia acarreta um aumento nas perdas de água e eletrólitos (principalmente sódio, potássio, cloretos e bicarbonato) responsáveis pelo volume do fluido extracelular. As perdas diárias de fluidos fecais podem alcançar de 13 a

18% do peso corpóreo dentro de 24 horas, devido à redução no volume de água corporal total. Há ainda a liberação do hormônio antidiurético e o aumento da sede, que faz com que haja retenção de água, hiponatremia e, como consequência, expansão de volume do fluido intracelular (FREITAS, 2009).

3.2 Principais enteropatógenos bacterianos

Alguns microrganismos são necessários para o desenvolvimento normal e função do trato gastrointestinal enquanto outros são potencialmente prejudiciais, tornando o trato intestinal suscetível à infecção com potenciais enteropatógenos. Na ausência de anticorpos protetores, eles podem se estabelecer e causar doença entérica (MUKTAR, 2015).

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* podem ser agrupadas em três categorias: patógenos principais, definidos como os maiores causadores de doenças entéricas e sistêmicas; patógenos oportunistas, que podem ocasionalmente causar doença clínica em locais fora do trato alimentar; e não-patógenos, que podem ser isoladas normalmente a partir das fezes ou do meio ambiente (QUINN *et al.*, 2005).

Escherichia coli são bactérias Gram negativas, fermentadoras de lactose, anaeróbias facultativas, comumente isoladas de fezes por serem comensais, não causando doença em seus hospedeiros. Porém em animais debilitados, imunocomprometidos ou com a barreira gastrointestinal alterada podem causar infecção. Em se tratando de cepas patogênicas, sua via de transmissão é fecal-oral por meio de água ou alimentos contaminados (COURA *et al.*, 2014)

E. coli é responsável pela colibacilose entérica, representando uma das síndromes mais comuns e muitos casos de colapso e morte de bezerros (MOURA, 2005). Pode ser classificada em seis patogrupos com base nos seus fatores de virulência: *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* produtora de toxina shiga; *E. coli* enteropatógena (EPEC); *E. coli* enteroinvasiva (EAEC); *E. coli* enteroagregativa; e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), sendo ETEC, EPEC e EHEC os tipos diarreicogênicos que mais ocorrem em bezerros jovens (MUKTAR *et al.*, 2015).

Salmonella sp. são bactérias Gram-negativas, não formadoras de esporos, aeróbias ou anaeróbias facultativas, geralmente móveis. Suas infecções resultam em manifestações clínicas variadas, dependendo do sorotipo envolvido e da idade do animal, podendo causar diarreia aguda seguida de desidratação e desequilíbrio eletrolítico, além de endotoxemia, bacteremia e morte (AVILA, 2009). Os bezerros recém-nascidos são mais acometidos pela

forma septicêmica, enquanto os bezerros com idade superior a quatro semanas e os bovinos adultos são mais acometidos pela forma aguda e crônica (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Salmonella sp. é classificada com base na existência de duas espécies, sendo elas *Salmonella enterica* que se subdivide nas subespécies: *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, *Salmonella enterica* subespécie *salamae*, *Salmonella enterica* subespécie *arizonae*, *Salmonella enterica* subespécie *diarizonae*, *Salmonella enterica* subespécie *houtenae* e *Salmonella enterica* subespécie *indica*; e *Salmonella bongori* (GOMES DA SILVA, 2017).

As bactérias do gênero *Proteus* sp. são consideradas oportunistas, multirresistentes aos antimicrobianos, e estão associadas a diversas infecções em animais domésticos, porém em animais de produção e de companhia são negligenciadas por serem tratadas como “contaminantes”, ainda que em infecções como agente primário (ZAPPA *et al.*, 2017). Atualmente a classificação do gênero se divide em *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Proteus hauseri* e existem ainda três espécies não nomeadas, conhecidas como 4, 5 e 6. Além disso, o gênero consiste em 80 sorogrupos O-antigênicos (DRZEWIECKA, 2016).

Klebsiella sp. é um bacilo Gram-negativo, aeróbio e não móvel que existe amplamente no ambiente e nas membranas mucosas dos mamíferos. As infecções neonatais e a sepse ocorrem com mais frequência em bezerros que apresentam falha de transferência passiva (LEE *et al.*, 2020). O gênero é dividido nas espécies: *K. Pneumoniae*, *K. oxytoca* e *K. Mobilis*. *K. pneumoniae* é a que está mais comumente associada a diarreias e possui uma subclassificação em três subespécies: *Klebsiella pneumoniae* subespécie *pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* subespécie *ozaenae* e *Klebsiella pneumoniae* subespécie *rhinoscleromatis* (SANTOS, 2007; LEE *et al.*, 2020)

As bactérias do gênero *Enterobacter* são consideradas como causadoras de infecções oportunistas pois fazem parte da microbiota do trato gastrointestinal de mamíferos, e também podem estar presentes na água, certos alimentos, solo e esgoto (RAMIREZ; GIRON, 2021). O gênero possui em torno de 21 espécies e subespécies, porém as mais encontradas e capazes de causar sinais clínicos são *Enterobacter cloacae* e *Enterobacter aerogenes* (MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2016).

3.3 Diagnóstico

No processo de investigação para o diagnóstico, é importante a realização de uma acurada anamnese, associada aos sinais clínicos e diagnósticos laboratoriais. As fezes diarreicas sugestivas devem ser de preferência, colhidas antes de se iniciar o tratamento com

antibióticos. Na infecção ativa, ou dificuldade para a obtenção de amostras deve ser priorizada a utilização de *swabs* retais (VASCONCELOS *et al.*, 2019)

O isolamento microbiológico é indicado como o método mais eficiente no diagnóstico a partir de amostras de fezes de bezerros, pelo isolamento da bactéria nas fezes ou material do intestino, por semeadura em meio seletivo ou não (VARGAS JÚNIOR, 2015).

Além da cultura, são incluídos testes bioquímicos, testes imunológicos para sorotipagem dos antígenos e detecção de produtos de virulência (MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2016). As técnicas moleculares são utilizadas cada vez mais e a sua utilização contribui com as técnicas convencionais proporcionando diagnósticos cada vez mais precisos e mais rápidos (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

3.4 Resistência

Nas últimas décadas houve uma intensificação da produção de bovinos, aumentando as taxas de lotação dos rebanhos e provocando o aumento dos casos de contaminação por agentes patogênicos. Com isso houve uma necessidade maior do uso de medicamentos, incluindo os antibióticos (GONÇALVES, 2019).

Entretanto, o uso generalizado e às vezes indiscriminado de antimicrobianos levou à seleção de bactérias inerentemente resistentes que possuem a capacidade de transmitir essas informações para bactérias suscetíveis e que podem adquirir resistência por meio dos cromossomos bacterianos ou plasmídeos (QUINN *et al.*, 2005).

As diarreias, por terem etiologia multifatorial, tornam o tratamento ainda mais complicado (CHO; YOON, 2014). Muitas vezes os tratadores administram antibióticos de amplo espectro que possuem mecanismos de ação ineficazes contra algumas bactérias, favorecendo o surgimento de cepas resistentes. Nas bactérias Gram-negativas, a resistência ocorre devido a ampla variedade de enzimas betalactamase e a baixa permeabilidade dessas bactérias ou falta de receptores (MCVEY; KENNEDY; CHENGAPPA, 2016)

Além de se tornar um entrave no tratamento e controle da diarreia em bezerros, a resistência bacteriana constitui um alerta à saúde pública, pois o manejo ou a administração de antibióticos inadequados podem favorecer infecção humana, e principalmente por se tratarem de bactérias com potencial zoonótico, comumente associadas a infecções hospitalares por superbactérias (AZOLA, 2016).

3.5 Controle e Profilaxia

Para controlar e evitar casos de diarreias e demais enfermidades nos bezerros, os cuidados devem começar no pré-parto quando é possível administrar vacinas às vacas gestantes (OLIVEIRA FILHO, 2006). Também deve ser observado o cuidado na administração do colostro, respeitando a quantidade e intervalo de tempo adequado para garantir a transferência da imunidade passiva, a realização da cura do umbigo que também pode servir de porta de entrada para microrganismos, e a alimentação adequada respeitando o desenvolvimento ruminal (SIGNORETTI, 2015).

Além disso, o cuidado com condições de higiene do local é de extrema importância, uma vez que os animais expostos a altas cargas infectantes tendem a desenvolver diarreia. A alta densidade populacional acaba favorecendo um maior contato entre os animais, o que facilita a transmissão de agentes patogênicos (RIET- CORREA,2001).

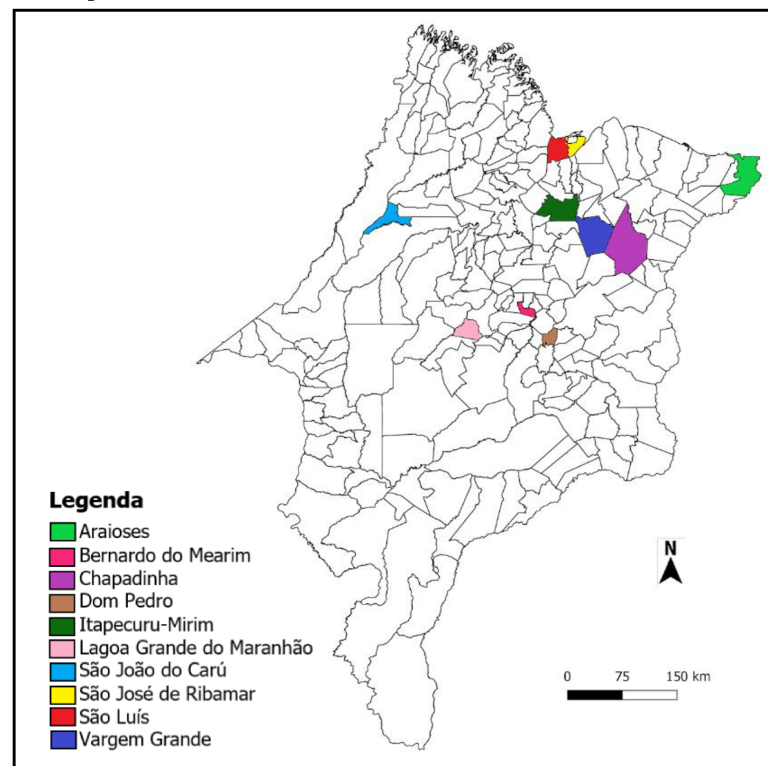
Essas boas práticas de manejo devem continuar durante todo o período em que são considerados neonatos, e seguir até após a desmama, onde esses animais devem ser vacinados e desparasitados (interna e externamente), garantindo a exposição aos antígenos derivados dos patógenos, ajudando na formação e desenvolvimento da imunidade ativa (CAIXETA; DO CARMO, 2020).

4 MATERIAL E MÉTODOS

- **Área de estudo**

Foram estudadas propriedades produtoras de leite situadas nos municípios de Araioses, Bernardo do Mearim, Chapadinha, Dom Pedro, Itapecuru-Mirim, Lagoa Grande do Maranhão, São João do Carú, São José de Ribamar, São Luís e Vargem Grande (Figura 1).

Figura 1 – Mapa do Maranhão evidenciando a localização dos municípios estudados



Fonte: Autoria própria (2021) / adaptado de IBGE (2017)

- **Coleta de Amostras**

Os animais foram inicialmente submetidos a exame clínico, destacando-se a verificação da coloração das mucosas e o grau de desidratação. As fezes foram avaliadas quanto à consistência, coloração, odor e presença de sangue e colhidas diretamente da ampola retal dos animais utilizando *swab* estéril contido em solução salina 0,9% (Figura 2). Posteriormente as amostras foram armazenadas em uma caixa térmica com gelo, visando manter a refrigeração entre 4 e 8°C.

Figura 2 – Coleta de amostra fecal em bezerro utilizando *swab* estéril com solução salina 0,9%



Fonte: Autoria própria (2019)

- **Isolamento, identificação bioquímica e antibiograma**

A pesquisa de enterobactérias foi realizada no Laboratório de Bacteriologia Clínica Veterinária –LAMP –Universidade Estadual do Maranhão. Para o isolamento, as amostras de fezes foram semeadas em placas contendo ágar MacConkey e ágar-sangue ovino (5%), incubadas a 37° C em condições de aerobiose, com leitura e identificação das colônias em 24 e 48 horas. Posteriormente as colônias foram semeadas em meios seletivos de ágar eosina – azul de metileno (EMB) e ágar *Salmonella-Shigella*, nas mesmas condições descritas para a semeadura direta.

As colônias foram identificadas fenotipicamente com base na morfologia colonial avaliando formato, tamanho, aspecto, coloração, hemólise; reação a coloração de Gram seguindo as recomendações propostas pelo fabricante (Newprov®); e nos testes bioquímicos de TSI, Citrato de Simmons, lisina (LIA), urease, indol e vermelho de metila (VM) de acordo com Quinn *et al.* (2005).

Os enteropatógenos foram submetidos à prova de sensibilidade microbiana com os antibióticos Tetraciclina (30 µcg), Estreptomicina (10 µcg), Penicilina G (10 UI), Gentamicina (10 µcg), AMC (30 µcg), Florfenicol (30 µcg), Eritromicina (15 µcg), Amoxicilina (10 µcg), Ceftiofur (30 µcg), Enrofloxacin (5 µcg), Cefalexina (30 µcg), e Cotrimoxazol (25 µcg) (sulfametoxazol-trimetoprim). As placas foram incubadas por 18 horas

à 37°C com posterior mensuração dos diâmetros dos halos de inibição seguindo as recomendações do Método de Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966).

- **Dados epidemiológicos**

Foram estudados aspectos epidemiológicos relacionados à ocorrência de diarreias, quanto à distribuição por municípios e propriedades, à idade, ao sexo, à etiologia provável, aos aspectos macroscópicos das fezes, definidos por meio de informações clínicas (histórico e exame físico) com base nas informações obtidas pelo questionário técnico aplicado (Apêndice A). Os dados foram avaliados por meio de estatística descritiva simples, expressando os resultados em porcentagens. Todos os dados foram tabulados em planilhas com o auxílio da plataforma do Microsoft Excel® 2016.

- **Georreferenciamento**

Foi realizado o mapeamento das propriedades visitadas por meio da obtenção das coordenadas geográficas de latitude e longitude com respectivo sistema em grau, minutos e segundos por meio do aplicativo Google Maps®, para fazer o georreferenciamento de propriedades, considerando os rebanhos como positivos ou negativos para diarreia em bezerros, com o auxílio dos programas Google Earth® e QGIS®.

- **Comitê de ética**

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Estadual do Maranhão por meio do protocolo de número: 30/2020 (Apêndice B).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos 10 municípios estudados, foram avaliados 230 bezerros, distribuídos entre 20 propriedades, obtendo-se um total de 21 animais com sinais clínicos de diarreia, representando uma frequência de 9,13%. A frequência de propriedades positivas foi de 35% (n=7). Os animais positivos eram provenientes de três propriedades do município de São Luís, uma propriedade do município de Itapecuru-Mirim, uma propriedade do município de São João do Carú, uma propriedade do município de Araiases e uma propriedade do município de Bernardo do Mearim, representando uma frequência de 50% (n=5) de municípios positivos (Tabela 1).

Tabela 1 – Relação da frequência e número de animais, municípios e propriedades avaliadas

	Positivos	Negativos	Total
Animais	9,13% (n=21)	90,87% (n=209)	100% (n=230)
Municípios	50% (n=5)	50% (n=5)	100%(n=10)
Propriedades	35% (n=7)	65% (n=13)	100% (n=20)

Fonte: Autoria própria (2021)

Em um estudo semelhante, Botteon *et al.* (2008) obtiveram uma frequência de 19,75% (390) de animais diarreicos, e correlacionou seus dados com Sousa *et al.* (2000) que identificaram índices de 28,04% em diferentes condições de manejo, confirmando a relevância da diarreia nos bezerros.

A idade dos animais positivos variou de 7 a 90 dias, sendo mais acometidos os bezerros com idade inferior a dois meses, a maioria fêmea (Tabela 2). A porcentagem de fêmeas em relação ao total foi de 5,65% e de machos 3,47%. Esses dados corroboram com os dados encontrados por Monney *et al.* (2020) que encontrou maior incidência nos primeiros meses de vida, e as ocorrências decaíram até o terceiro trimestre desses animais.

Tabela 2 - Frequência do sexo e da faixa etária de bezerros acometidos com diarreia

Variáveis	n	%
Fêmea	13	62
Macho	8	38
< 1 mês	5	24
1 a 2 meses	9	43
2 a 3 meses	5	24
> 3 meses	2	9

Fonte: Autoria própria (2021)

Em geral a maioria (62%, n=13) das fezes diarreicas apresentava consistência líquida, 38% pastosas; de coloração marrom (48%, n=10) seguida por amareladas (33%, n=7) e esverdeadas (19 %, n=4) (Figura 3); e com odor fétido característico (81%, n=17) (Tabela 3 e Figura 3).

Figura 3 – Fezes líquidas e esverdeadas (A) e fezes pastosas e amareladas (B) obtidas dos bezerros estudados



Fonte: Autoria própria (2021)

Tabela 3 - Frequência e número das características das fezes

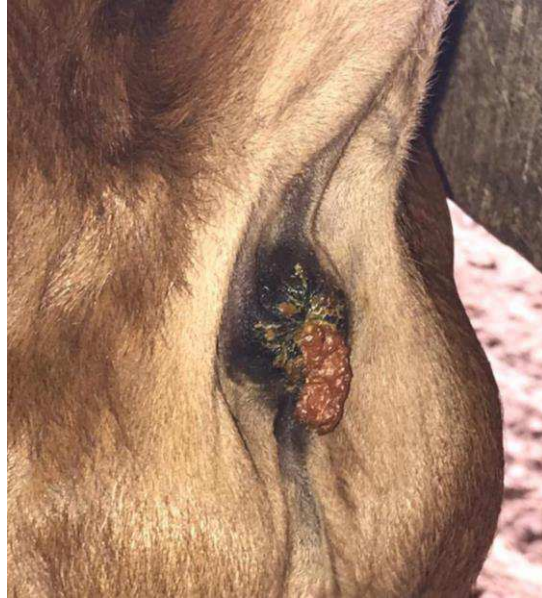
Características das fezes	%	n
Líquida	62	13
Pastosa	38	8
Amarelada	33	7
Esverdeada	19	4
Marrom	48	10
Com Odor	81	17
Sem Odor	19	4

Fonte: Autoria própria (2021)

No seu estudo com bezerros da raça Nelore, Oliveira Filho (2007) também constatou um maior número de fezes líquidas (65%) e com odor fétido (89%), porém com predomínio da coloração esverdeada das fezes (73%).

Em nenhum animal foi observada presença de sangue nas fezes, assim como constatado por Oliveira Filho (2007), tendo como única alteração nesse estudo, um animal apresentando prolapso retal parcial (Figura 4), que tem como causa principal as enterites com diarreia abundante (RADOSTITS *et al.*, 2002).

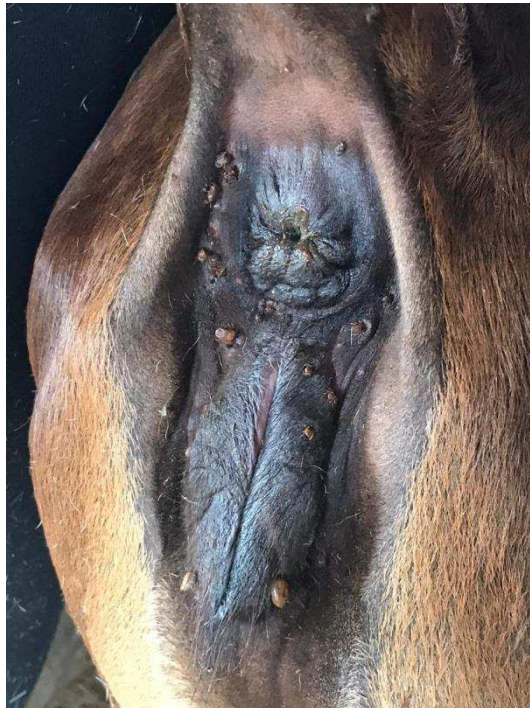
Figura 4 – Bezerro com uma semana de vida apresentando prolapso retal em decorrência da diarreia



Fonte: Autoria própria (2020)

Apesar de estarem acometidos com diarreia, os bezerros apresentavam comportamento normal, não demonstrando, no momento da avaliação, sinais graves de desidratação ou algum outro sinal de infecção sistêmica. Em alguns animais foi observada a presença de ectoparasitas, evidenciando a carência de cuidados (Figura 5).

Figura 5 – Bezerro apresentando diversos ectoparasitas que ficaram evidenciados durante o momento da coleta das amostras de fezes



Fonte: Autoria própria (2020)

Por se tratarem de animais oriundos de sistema de aptidão leiteira, eram criados em sistema semi-intensivo, porém o local em que permaneciam boa parte do tempo não possuía condições de higiene adequada contendo muita lama e fezes acumuladas, e os bezerros ficavam aglomerados (Figura 6). Segundo Candido e Guerrios (2020), falhas no manejo aumentam as chances para entrada de agentes infecciosos provocando doenças, principalmente a diarreia.

Figura 6 – Bezerros aglomerados em ambiente inadequado, situados em uma propriedade com animais diarreicos



Fonte: Autoria própria (2020)

Nas situações em que a densidade animal é alta, há acúmulo de matéria orgânica, umidade excessiva e promiscuidade de faixas etárias, determinando maior risco de contaminação dos animais e maior probabilidade de ocorrência de surtos ou casos clínicos. (FERREIRA, 2009)

Nos animais diarreicos estudados por Monney *et al.* (2020), 90% eram mantidos em terrenos lamacentos e não foram alojados separadamente em instalações para bezerros. Esta alta densidade populacional comumente resulta em aumento na incidência de diarreia de bezerros. As instalações exigem cuidados com a higienização que, mesmo não garantindo a diminuição de agentes infecciosos ou os riscos de contaminação exercem igual ou superior efeito sobre a ocorrência de diarreia, bem como o estresse ou competição entre os animais (BOTTEON *et al.*, 2008)

Em geral o colostro era oferecido em até 12h após o nascimento, e os bezerros eram apartados depois de 24h de vida. O fornecimento do leite acontecia no máximo duas vezes ao dia, acompanhando a rotina da ordenha, onde são usados para estimular a descida do

leite (Figura 12). Carvalho *et al.* (2014) relacionam o fornecimento de maior quantidade de leite ou sucedâneo com benefícios sobre a imunidade dos bezerros.

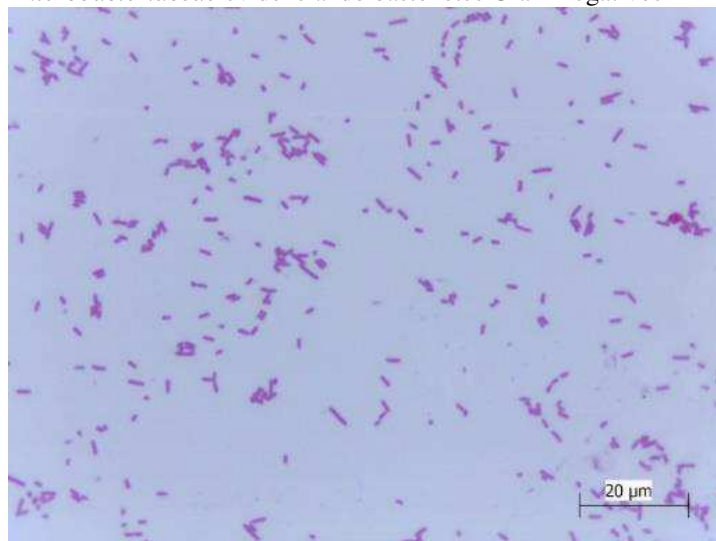
Figura 7 – Bezerros se alimentando durante a rotina de ordenha



Fonte: Autorial própria (2020)

Na análise das amostras, o crescimento em placa e os resultados dos testes bioquímicos revelaram bactérias com formato de bastonetes Gram-negativos (Figura 8), pertencentes à família *Enterobacteriaceae* sendo 42,9% (n=9) *Escherichia coli*, 23,8% (n=5) *Klebsiella* sp., 14,3% (n=3) *Salmonella* sp., 9,5% (n=2) *Proteus* sp. e 9,5% (n=2) *Enterobacter* sp. (Tabela 4).

Figura 8 – Reação à coloração de Gram das bactérias da família *Enterobacteriaceae* evidenciando bastonetes Gram-negativos



Fonte: Autorial própria (2021)

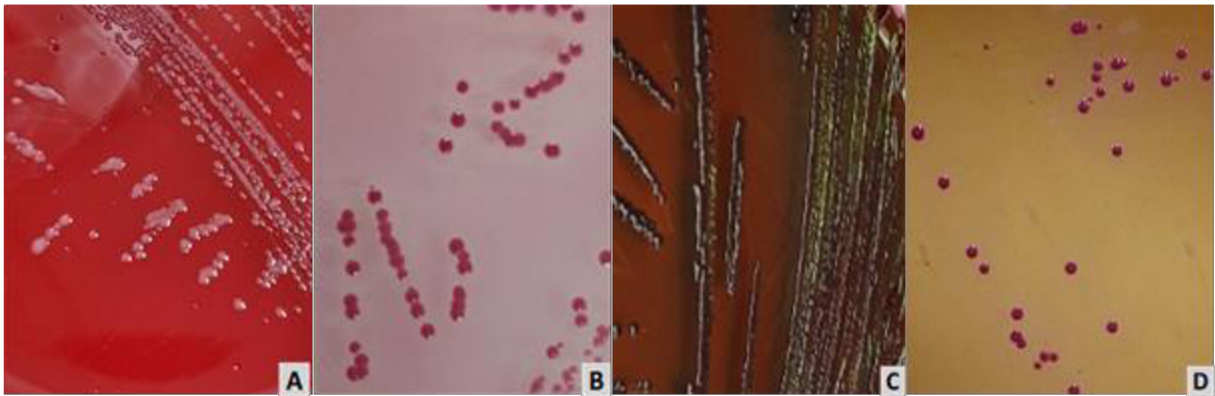
Tabela 4 - Frequência e número de espécies bacterianas isoladas dos bezerros com diarreia

Bactérias	%	N
<i>Escherichia coli</i>	42,9	9
<i>Klebsiella</i> sp.	23,8	5
<i>Salmonella</i> sp.	14,3	3
<i>Proteus</i> sp.	9,5	2
<i>Enterobacter</i> sp.	9,5	2

Fonte: Autoria própria (2021)

As bactérias identificadas como *E. coli* apresentaram coloração acinzentada, de formato redondo, brilhante e com odor característico, em ágar sangue ovino (5%), com algumas apresentando hemólise. No ágar MacConkey tiveram reação positiva à fermentação da lactose; colônias com brilho verde metálico em placas de ágar eosina – azul de metileno; e de coloração rosa no ágar *Salmonella-Shigella* (Figura 9).

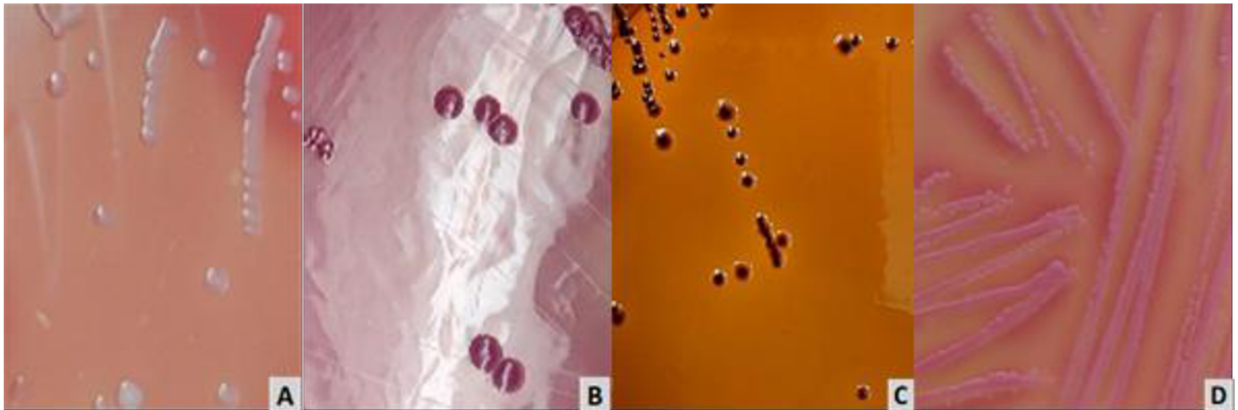
Figura 9 - Caracterização das colônias de *Escherichia coli* nos meios de cultura ágar sangue ovino (5%) (A), MacConkey (B), eosina-azul de metileno (C) e *Salmonella-Shigella* (D)



Fonte: Autoria própria (2021)

As bactérias identificadas como *Klebsiella* sp. e *Enterobacter* sp. apresentaram coloração acinzentada, com aspecto mucoide em ágar sangue ovino (5%). No ágar MacConkey tiveram reação positiva à fermentação da lactose com colônias grandes; colônias de coloração escura sem brilho verde metálico em placas de ágar eosina – azul de metileno; e de coloração rosa no ágar *Salmonella-Shigella* (Figura 10).

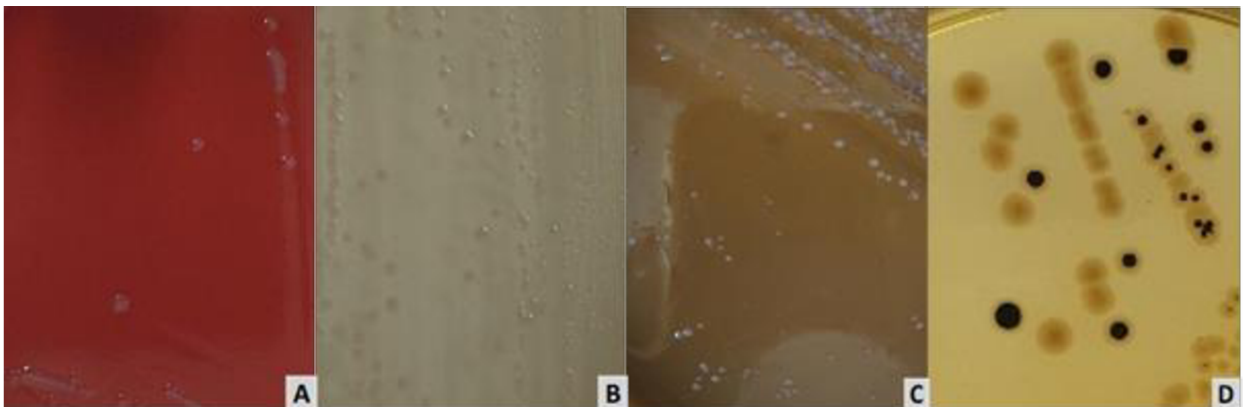
Figura 10 - Caracterização das colônias de *Klebsiella* sp. e *Enterobacter* sp. nos meios de cultura ágar sangue ovino (5%) (A), MacConkey (B), eosina-azul de metileno (C) e *Salmonella-Shigella* (D)



Fonte: Autoria própria (2021)

As bactérias identificadas como *Salmonella* sp. e *Proteus* sp. apresentaram coloração acinzentada, de aspecto redondo, brilhante e com odor característico em ágar sangue ovino (5%). No ágar MacConkey tiveram reação negativa à fermentação da lactose; colônias de cor rosa claro/incolor a translúcida em placas de ágar eosina – azul de metileno; e de coloração marrom com centro escuro no ágar *Salmonella-Shigella* (Figura 11).

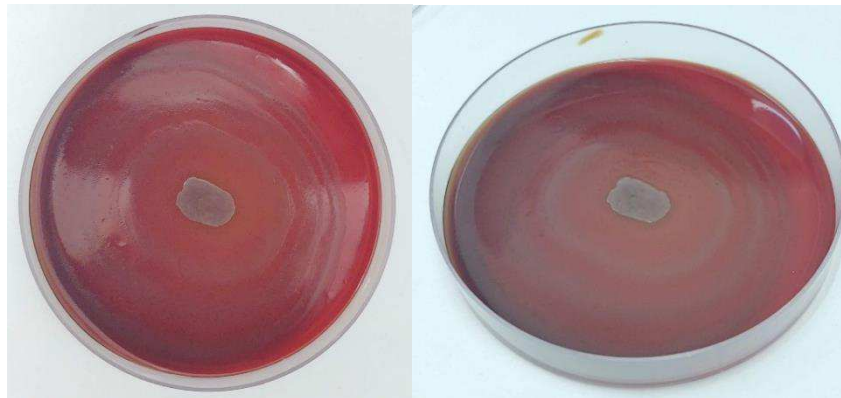
Figura 11 - Caracterização das colônias de *Salmonella* sp. e *Proteus* sp. nos meios de cultura ágar sangue ovino (5%) (A), MacConkey (B), eosina-azul de metileno (C) e *Salmonella-Shigella* (D)



Fonte: Autoria própria (2021)

As colônias de *Proteus* sp. apresentaram o processo de enxameação (“swarming”), quando cultivadas em ágar sangue ovino (5%) (Figura 12). Esse fenômeno pode ser explicado como um mecanismo de motilidade, associada a capacidade de colonizar e invadir o tecido hospedeiro (MICHELIM, 2008).

Figura 12 - Caracterização das colônias de uma mesma amostra de *Proteus* sp. em meio de cultura Ágar sangue ovino (5%), evidenciando o fenômeno de enxameação



Fonte: Autoria própria (2021)

Os resultados dos testes bioquímicos utilizados para complementar os resultados de crescimento em placa e auxiliar na identificação dos gêneros e/ou espécies bacterianas encontradas estão descritos na tabela 5.

Tabela 5 - Reações bioquímicas nos testes TSI (Triple Sugar Iron), LIA (Lisina Iron Agar), Citrato de Simons, Urease, Indol e Vermelho de Metila (VM)

Amostras	TSI	LIA	Citrato	Urease	Indol	VM
<i>Escherichia coli</i>	Fermentação de Lactose e Sacarose (base e ápice amarelos) e produção de gás	+	-	-	+	+
<i>Klebsiella</i> sp.	Fermentação de Lactose e Sacarose (base e ápice amarelos) e produção de gás	+	+	+-	+-	-
<i>Salmonella</i> sp.	Fermentação apenas de Sacarose (base amarela e ápice vermelho) e H ₂ S	+ H ₂ S	+	-	-	-
<i>Proteus</i> sp.	Fermentação apenas de Sacarose (base amarela e ápice vermelho) e H ₂ S	-	+	+	+	+
<i>Enterobacter</i> sp.	Fermentação de Lactose e Sacarose (base e ápice amarelos) e produção de gás	+	+	+-	-	-

Fonte: Autoria própria (2021)

Não foi possível estabelecer um padrão em que se pudesse correlacionar os achados macroscópicos das fezes com seu agente etiológico, visto que animais acometidos com o mesmo agente apresentavam diferentes características fecais (Tabela 6).

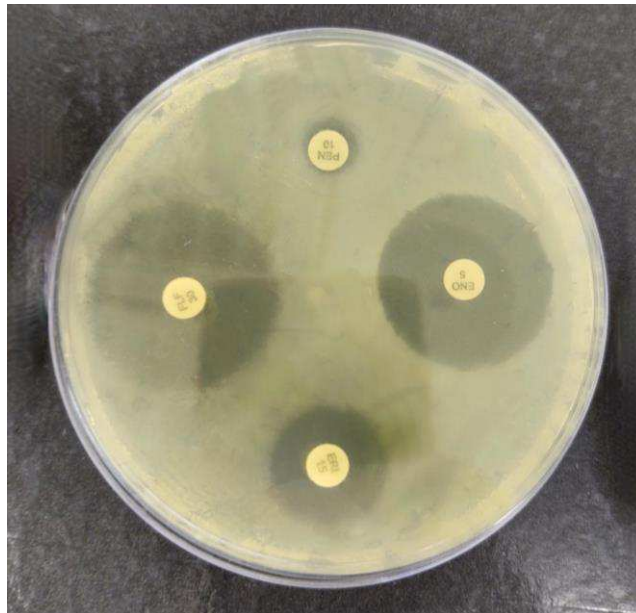
Tabela 6 – Frequência das características fecais relacionadas com as bactérias encontradas em bezerros com diarreia

Características das fezes	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Proteus sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
Líquida	67 % (n=6)	80% (n=4)	33,3 % (n=1)	100 % (n=2)	50 % (n=1)
Pastosa	33 % (n=3)	20% (n=1)	66,7% (n=2)	-	50 % (n=1)
Amarelada	33 % (n=3)	60% (n=3)	33,3 % (n=1)	-	-
Esverdeada	22% (n=2)	-	33,3 % (n=1)	-	50 % (n=1)
Marrom	45 % (n=4)	40% (n=2)	33,3 % (n=1)	100 % (n=2)	50 % (n=1)
Com Odor	78% (n=7)	60% (n=3)	100 % (n=3)	50 % (n=1)	100 % (n=2)
Sem Odor	22% (n=2)	40% (n=2)	-	50 % (n=1)	-

Fonte: Autoria própria (2021)

No antibiograma dos isolados obtidos (Figura 13), todos apresentaram resistência a Penicilina G (100 %) e Eritromicina (33% resistente e 67% intermediária). Esse fator é explicado devido à produção de enzimas que promovem resistência a alguns antimicrobianos betalactâmicos, incluindo cefalosporinas e penicilinas. (ZAPPA *et al.*, 2017); e sensibilidade a Enrofloxacina (5 µcg), Ceftiofur (30 µcg), Cotrimoxazol (25 µcg), Estreptomicina (10 µcg), Florfenicol (30 µcg) e Gentamicina (10 µcg) (Tabela 7).

Figura 13 – Antibiograma dos antibióticos Penicilina G (10 UI), Eritromicina (15 µcg), Enrofloxacina (5 µcg) e Florfenicol (30 µcg) em colônias de *E. coli*



Fonte: Autoria própria (2021)

Tabela 7 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade geral das bactérias, em bezerros com diarreia

Antibióticos	R	I	S
Amoxicilina + Ácido Clavulânico (30 µcg)	19% (n=4)	5% (n=1)	76% (n=16)
Amoxicilina (10 µcg)	43% (n=9)	-	57% (n=16)
Cefalexina (30 µcg)	24% (n=5)	5% (n=1)	71% (n=15)
Ceftiofur (30 µcg)	5% (n=1)	-	95% (n=20)
Cotrimoxazol (25 µcg)	5% (n=1)	-	95% (n=20)
Enrofloxacina (5 µcg)	-	-	100% (n=21)
Eritromicina (15 µcg)	33% (n=7)	67%(n=14)	-
Estreptomicina (10 µcg)	10% (n=2)	-	90% (n=19)
Florfenicol (30 µcg)	10% (n=2)	-	90% (n=19)
Gentamicina (10 µcg)	10% (n=2)	-	90% (n=19)
Penicilina G (10 UI)	100% (n=21)	-	-
Tetraciclina (30 µcg)	33% (n=7)	5% (n=1)	62% (n=13)

Fonte: Autoria própria (2021)

No estudo feito por Oliveira Filho (2007) os resultados de antibiograma, a Enrofloxacina (92,75%), seguida da gentamicina, florfenicol e sulfatrimetoprim (91,3%) foram os antimicrobianos sensíveis, corroborando com esta pesquisa, enquanto que a resistência foi observada para os antibióticos tetraciclina (30,4%) e ampicilina (31,9%), o que difere dos resultados dessa pesquisa. Esse fator pode ser explicado por conta dos princípios ativos que são pouco ou não utilizados nas propriedades avaliadas.

As bactérias que mais apresentaram resistência foram as do gênero *Proteus*, sendo resistentes a sete dos 12 antibióticos utilizados, seguidas de *Enterobacter* sp., sendo resistente aos antibióticos Amoxicilina e Penicilina, e todos os demais gêneros apresentaram resistência a Penicilina (Tabela 8).

Tabela 8 – Resultados do antibiograma de cada grupo de bactéria isoladas de bezerros com diarreia

Antibióticos	<i>Escherichia coli</i> (%)			<i>Klebsiella</i> sp. (%)			<i>Salmonella</i> sp. (%)			<i>Proteus</i> sp. (%)			<i>Enterobacter</i> sp. (%)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
AMC	-	-	100	-	-	100	33,3	33,3	33,3	100	-	-	50	-	50
AMO	11	-	89	40	-	60	66,6	-	33,3	100	-	-	100	-	-
CEF	-	-	100	-	-	100	66,6	-	33,3	100	-	-	50	50	-
CFT	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	50	-	50
ENO	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100
ERI	-	100	-	60	40	-	33,3	66,6	-	100	-	-	50	50	-
EST	-	-	100	20	-	80	33,3	-	66,6	-	-	100	-	-	100
FLF	11	-	89	-	-	100	33,3	-	66,6	-	-	100	-	-	100
GEN	-	-	100	-	-	100	-	-	100	100	-	-	-	-	100
PEN	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-
SUT	11	-	89	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100
TET	34	11	55	-	-	100	33,3	-	66,6	100	-	-	50	-	50

AMC – Amoxicilina + Ác. Clavulânico; AMO – Amoxicilina; CEF – Cefalexina; CFT – Ceftiofur; ENO – Enrofloxacina; ERI – Eritromicina; EST – Estreptomicina; FLF – Florfenicol; GEN – Gentamicina; PEN – Penicilina G; SUT – Cotrimoxazol; TET – Tetraciclina.

Fonte: Autoria própria (2021)

Ao se estabelecer um padrão a fim de relacionar cada espécie bacteriana com seus respectivos resultados de antibiograma foi possível observar a presença de bactérias multirresistentes.

Os isolados 01 e 06 de *E. coli* apresentaram resistência a três antibióticos, seguidas dos isolados 11 e 20 que apresentaram resistências a dois antibióticos. Os demais isolados do grupo apresentaram resistência unicamente a Penicilina G (Tabela 9).

Tabela 9 – Resultados do antibiograma dos isolados de *Escherichia coli* encontrados em bezerros com diarreia relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade

<i>Escherichia coli</i>	AMC	AMO	CFE	TET	ENO	PEN	FLF	ERI	CTF	GEN	SUT	EST
01	S	S	S	R	S	R	S	I	S	S	R	S
06	S	R	S	I	S	R	R	I	S	S	S	S
11	S	S	S	R	S	R	S	I	S	S	S	S
12	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S
13	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S
14	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S
19	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S
20	S	S	S	R	S	R	S	I	S	S	S	S
21	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S

AMC – Amoxicilina + Ác. Clavulânico; AMO – Amoxicilina; CEF – Cefalexina; CFT – Ceftiofur; ENO – Enrofloxacin; ERI – Eritromicina; EST – Estreptomicina; FLF – Florfenicol; GEN – Gentamicina; PEN – Penicilina G; SUT – Cotrimoxazol; TET – Tetraciclina. S – Sensibilidade; R – Resistência; I - Intermediário.

Fonte: Autoria própria (2021)

Os isolados de *Proteus* apresentaram padrões iguais de antibiograma, demonstrando resistência a sete antibióticos e sensibilidade a cinco (Tabela 10).

Tabela 10 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade dos isolados de *Proteus sp.* encontrados em bezerros com diarreia

<i>Proteus sp.</i>	AMC	AMO	CFE	TET	ENO	PEN	FLF	ERI	CTF	GEN	SUT	EST
02	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	S
04	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	S	S

AMC – Amoxicilina + Ác. Clavulânico; AMO – Amoxicilina; CEF – Cefalexina; CFT – Ceftiofur; ENO – Enrofloxacin; ERI – Eritromicina; EST – Estreptomicina; FLF – Florfenicol; GEN – Gentamicina; PEN – Penicilina G; SUT – Cotrimoxazol; TET – Tetraciclina. S – Sensibilidade; R – Resistência; I - Intermediário.

Fonte: Autoria própria (2021)

Os isolados 05 e 08 do gênero *Klebsiella* apresentaram resistência a três antibióticos, seguidos dos isolados 15 e 03 com resistência a dois antibióticos, e o isolado 17 com resistência a um antibiótico (Tabela 11).

Tabela 11 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade de das colônias de *Klebsiella* sp. encontradas em bezerros com diarreia

<i>Klebsiella</i> sp.	AMC	AMO	CFE	TET	ENO	PEN	FLF	ERI	CTF	GEN	SUT	EST
03	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	R	S
05	S	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
08	S	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
15	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S
17	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S

AMC – Amoxicilina + Ác. Clavulânico; AMO – Amoxicilina; CEF – Cefalexina; CFT – Ceftiofur; ENO – Enrofloxacin; ERI – Eritromicina; EST – Estreptomicina; FLF – Florfenicol; GEN – Gentamicina; PEN – Penicilina G; SUT – Cotrimoxazol; TET – Tetraciclina. S – Sensibilidade; R – Resistência; I - Intermediário

Fonte: Autoria própria (2021)

O isolado 09 do gênero *Enterobacter* apresentou um padrão de multirresistência, sendo resistente a oito antibióticos, enquanto que o isolado 18 foi resistente a apenas três (Tabela 12).

Tabela 12 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade de das colônias de *Enterobacter* sp. encontradas em bezerros com diarreia

<i>Enterobacter</i> sp.	AMC	AMO	CFE	TET	ENO	PEN	FLF	ERI	CTF	GEN	SUT	EST
09	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R
18	I	R	R	S	S	R	S	I	S	S	S	S

AMC – Amoxicilina + Ác. Clavulânico; AMO – Amoxicilina; CEF – Cefalexina; CFT – Ceftiofur; ENO – Enrofloxacin; ERI – Eritromicina; EST – Estreptomicina; FLF – Florfenicol; GEN – Gentamicina; PEN – Penicilina G; SUT – Cotrimoxazol; TET – Tetraciclina. S – Sensibilidade; R – Resistência; I - Intermediário.

Fonte: Autoria própria (2021)

O isolado 07 do gênero *Salmonella* também apresentou padrão de multirresistência, com resistência a oito antibióticos, enquanto os isolados 10 e 16 foram resistentes a três e a um antibiótico, respectivamente (Tabela 13).

Tabela 13 – Resultados do antibiograma relacionando os antibióticos com a Resistência, Resistência Intermediária e Sensibilidade de das colônias de *Salmonella* sp. encontradas em bezerros com diarreia

<i>Salmonella</i> sp.	AMC	AMO	CFE	TET	ENO	PEN	FLF	ERI	CTF	GEN	SUT	EST
07	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R
10	I	R	R	S	S	R	S	I	S	S	S	S
16	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S

AMC – Amoxicilina + Ác. Clavulânico; AMO – Amoxicilina; CEF – Cefalexina; CFT – Ceftiofur; ENO – Enrofloxacin; ERI – Eritromicina; EST – Estreptomicina; FLF – Florfenicol; GEN – Gentamicina; PEN – Penicilina G; SUT – Cotrimoxazol; TET – Tetraciclina. S – Sensibilidade; R – Resistência; I - Intermediário.

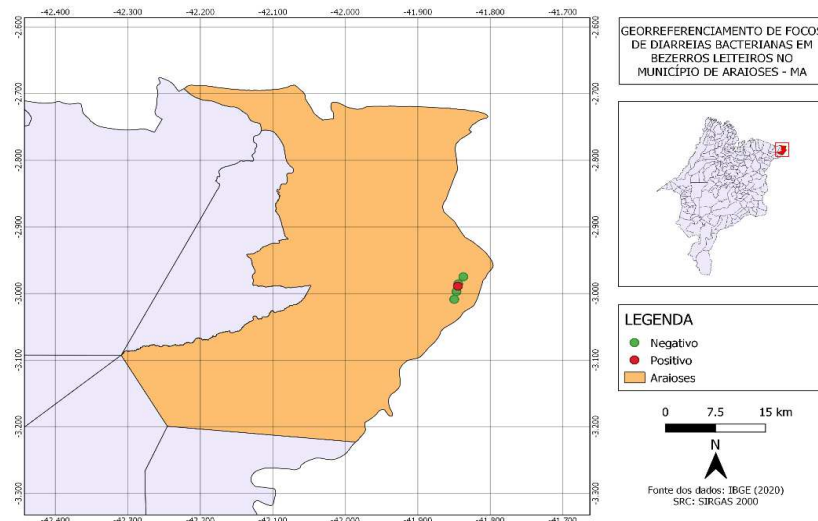
Fonte: Autoria própria (2021)

Scaldferr *et al.* (2020) afirmaram que bactérias como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, e *Salmonella* spp. desenvolvem rapidamente mecanismos de resistência contra novos antibióticos, principalmente pela formação de biofilmes, dando a elas capacidade de resistência ao sistema imune do hospedeiro e aos antimicrobianos. A resistência à Penicilina,

também foi observada por Vargas *et al.*, 2017. O uso indiscriminado de terapias antimicrobianas como prática comum entre as propriedades rurais, contribua para a resistência bacteriana aos fármacos (GONÇALVES, 2019).

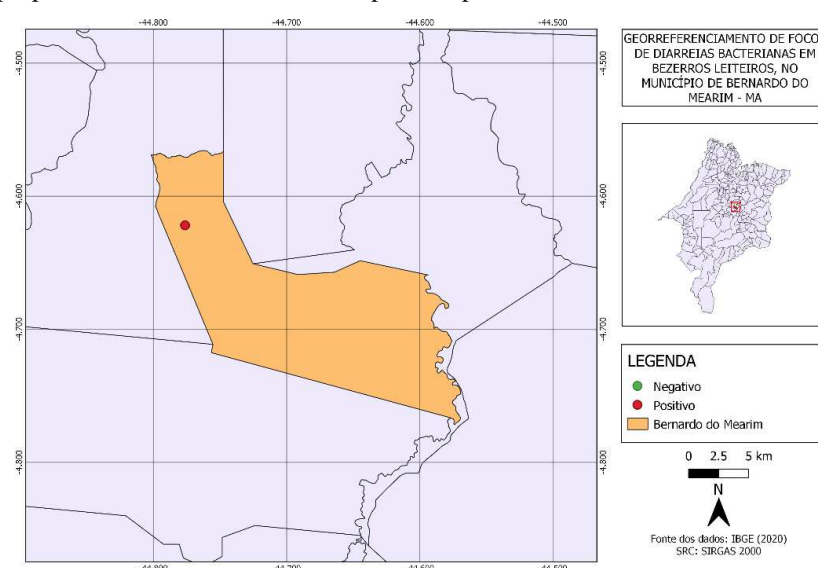
Ao realizar um estudo espacial, considerando a distribuição de casos, por meio do georreferenciamento, foi possível observar que no município de Araioses foram avaliadas cinco propriedades, sendo apenas uma positiva para diarreia, totalizando 62 animais estudados e apenas um com sinal clínico de diarreia (Figura 14). No município de Bernardo do Mearim foi avaliada uma propriedade que possuía quatro animais positivos de um total de 19 animais estudados (Figura 15).

Figura 14 – Mapa do município de Araioses evidenciando a localização das propriedades estudadas, consideradas negativas e positivas para diarreia em bezerros



Fonte: Autoria própria (2021)

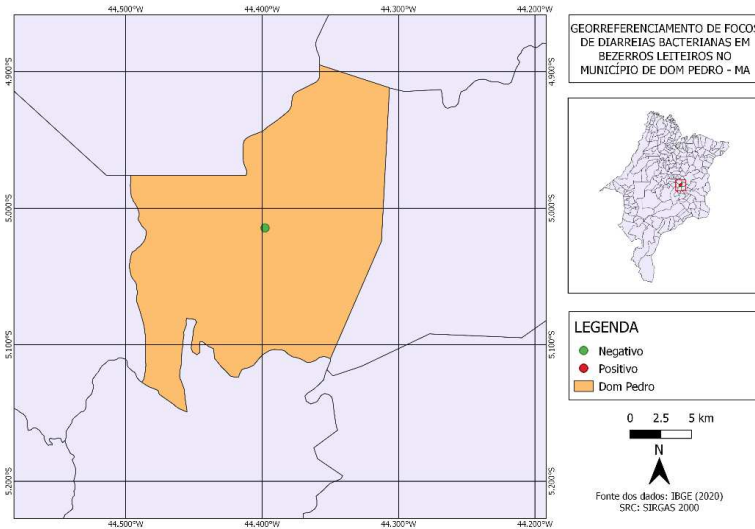
Figura 15 – Mapa do município de Bernardo do Mearim evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada positiva para diarreia em bezerros



Fonte: Autoria própria (2021)

No município de Dom Pedro foi avaliada uma propriedade com 30 animais que não apresentaram diarreia (Figura 16).

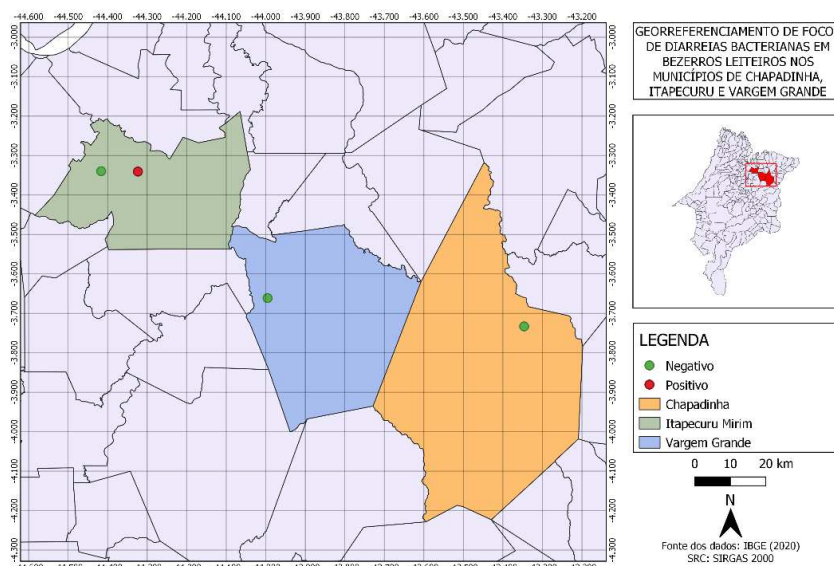
Figura 16 – Mapa do município de Dom Pedro evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada negativa para diarreia em bezeros



Fonte: Autoria própria (2021)

No município de Itapecuru – Mirim foram avaliadas duas propriedades, totalizando 34 animais estudados. Apenas uma dessas propriedades apresentou seis animais positivos. Em Chapadinha foi avaliada uma propriedade com sete animais, com nenhum tendo sinais clínicos de diarreia. E no município de Vargem Grande dos quatro animais avaliados em uma propriedade, nenhum apresentou diarreia (Figura 17).

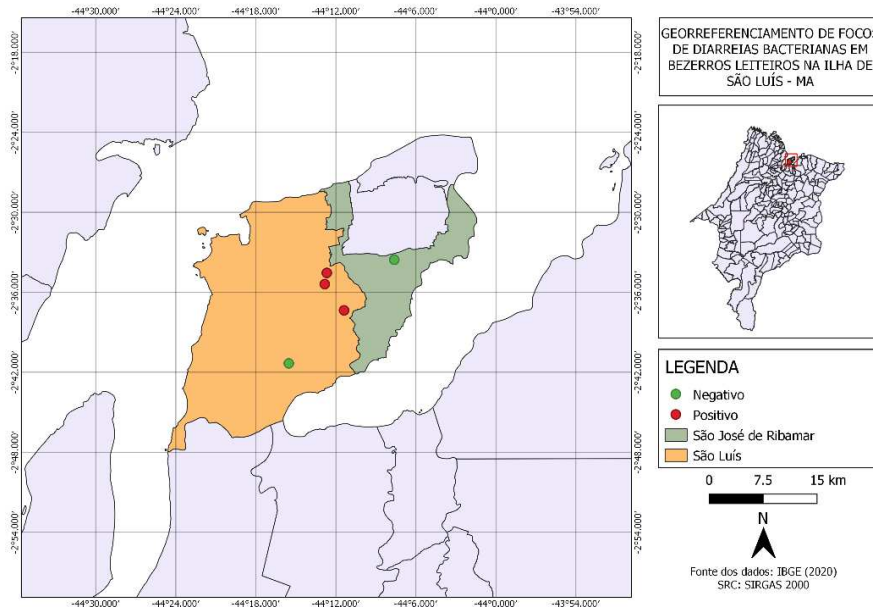
Figura 17 – Mapa dos municípios de Chapadinha, Itapecuru-Mirim e Vargem Grande evidenciando a localização das propriedades estudadas, consideradas positivas e negativas para diarreia em bezeros



Fonte: Autoria própria (2021)

No município de São Luís foram avaliadas quatro propriedades, totalizando 23 animais estudados. Três dessas propriedades continham animais com diarreia, num total de cinco animais positivos. E em São José de Ribamar dos oito animais avaliados em uma propriedade, nenhum apresentou diarreia (Figura 18).

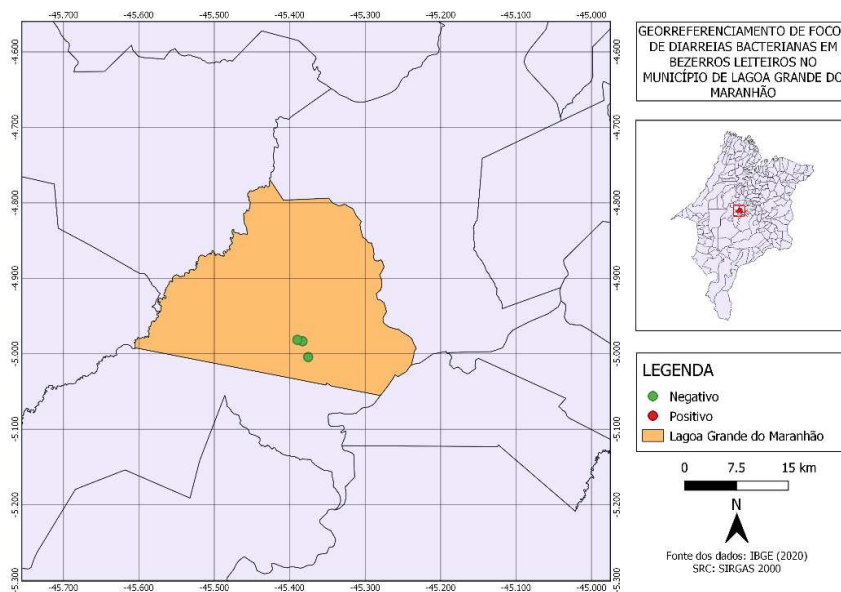
Figura 18 – Mapa dos municípios de São José de Ribamar e São Luís evidenciando a localização das propriedades estudadas, consideradas positivas e negativas para diarreia em bezerros



Fonte: Autoria própria (2021)

Em Lagoa Grande do Maranhão foram avaliadas três propriedades com 24 animais no total, não apresentando animais positivos para diarreia (Figura 19).

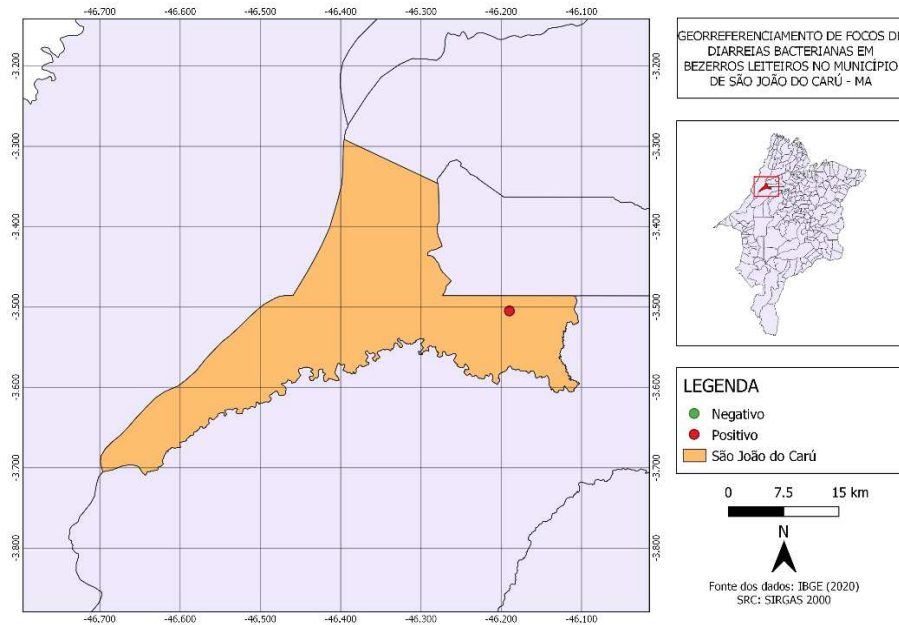
Figura 19 – Mapa do município de Lagoa Grande do Maranhão evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada negativa para diarreia em bezerros



Fonte: Autoria própria (2021)

No município de São João do Carú foi avaliada uma propriedade com 19 animais no total e cinco foram positivos para diarreia (Figura 20).

Figura 20 – Mapa do município de São João do Carú evidenciando a localização da propriedade estudada, considerada positiva para diarreia em bezerros



Fonte: Aatoria própria (2021)

Este é o primeiro estudo em que se obtém dados de georreferenciamentos de focos relacionados a diarreia em bezerros no estado do Maranhão, devido a isso não é possível realizar um comparativo, visto que não são encontrados dados para que seja possível construir uma linha epidemiológica dessa síndrome no estado. O trabalho a que se tem referência é de um surto *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Dublin, ocorrido em 2012, no município de Timon (MARQUES, *et al.*, 2013)

6 CONCLUSÃO

Foi possível observar que a diarreia está presente nos bezerros leiteiros do estado do Maranhão, o que evidencia a importância do estudo dessa síndrome no estado. Os municípios de São Luís, Itapecuru-Mirim, São João do Carú, Araiases e Bernardo do Mearim apresentaram animais positivos, o que demonstra a vulnerabilidade imunológica dos bezerros, em consequência das condições de higiene e instalações inadequadas nessas localidades, ratificando assim a necessidade da implementação de assistência técnica veterinária que possa estabelecer medidas de controle e profilaxia eficazes para evitar a disseminação de doenças.

As bactérias encontradas são relevantes tanto para saúde animal quanto para a saúde humana, reforçando seu caráter zoonótico, e servindo de alerta à saúde pública, visto que os isolados desse estudo demonstraram resistência *in vitro* a vários antibióticos, o que predispõe à resistência, culminando no surgimento de superbactérias. Sendo assim, recomenda-se a realização de antibiogramas, quando possível, em tratamentos em que seja recomendado o uso de antibióticos, seguindo a posologia correta.

REFERÊNCIAS

- ASSIS-BRASIL N. D. et al. Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.423-430, 2013.
- AVILA, L. G. “estudo clínico, laboratorial e terapêutico da diarreia experimental em bezerros induzida por Salmonella entérica Subespécie entérica Sorotipo Typhimurium”. **Dissertação (mestrado)** - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.
- AZOLA, J. da S. M. Genes de virulência e perfil de susceptibilidade a extratos vegetais de isolados de Escherichia coli enterotoxigênicas (ETEC), shigatoxigênicas (STEC) e enteropatogênicas (EPEC) em bezerros. **Tese (doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2016.
- BEZERRA, S. A. et al. Comportamento da produção e dos preços de leite bovino no estado do Maranhão. **Nucleus Animalium**, v.9, n.1, nov. 2017
- BOTTEON, Rita de Cássia Campbell Machado et al. Frequência de diarréia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 2, p. 153-160, 2008.
- CAIXETA, Diogo Gonçalves; DO CARMO, Janaina Paula. CRIAÇÃO DE BEZERROS NEONATOS: manejo e bem estar. **Scientia Generalis**, v. 1, n. 3, p. 92-103, 2020.
- CANDIDO, Andressa Amaral; GUERIOS, Euler Márcio Ayres. Problemas associados à diarreia neonatal na bovinocultura leiteira. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 3, n. 1, p. 121-131, 2020.
- CARVALHO, J. G. et al. Estudo longitudinal da infecção por enteropatógenos em bezerros neonatos, com diarreia, sob diferentes estratégias de aleitamento. **Pesq. Vet. Bras.** 34(6):529-536, junho 2014.
- CHO, Yong-il; YOON, Kyoung-Jin. An overview of diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. **Journal od veterinary science**, v. 15, n.1, p. 1-17, 2014.
- CRUZ, D. A. C. da. **Região Nordeste: nova fronteira do leite no Brasil**. Instituto BioSistêmico, 2016. Disponível em: <<https://www.biosistemico.org.br/blog/regiao-nordeste-nova-fronteira-do-leite-no-brasil/>> Acesso em 27 fev. 2019.
- DRZEWIECKA, Dominika. “Significance and Roles of Proteus spp. Bacteria in Natural Environments.” **Microbial ecology**. vol. 72,4. 2016.
- FERREIRA, Marina Guimaraes. Prevalência dos principais enteropatógenos em bezerros da fase de aleitamento em explorações leiteiras semi-intensivas de duas bacias leiteiras do estado de Minas Gerais. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária. 2009.
- FORSYTHE, STEPHEN J., et al. “Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Cronobacter, Serratia, Plesiomonas e outras Enterobacteriaceae”. In: Jorgensen J.H., et al. **Manual of clinical microbiology**. 11. ed. p. 685–713. Washington ASM Press, 2015.
- FREITAS M.D. Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais de bezerras com diarreia neonatal naturalmente adquiridas. **Dissertação de Mestrado em Ciência Animal**, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2009

GAMEZ, H. A. J, et al. Diarréia bovina: estudo da etiologia, virulência e resistência a antimicrobianos de agentes isolados de bezerros da região de Ribeirão Preto. **ARS VETERINARIA**, Jaboticabal, SP, Vol. 22, nº1, 022-030, 2006.

GASPAR, E.B. et al. Incidência de diarreia em terneiros leiteiros criados em sistema de estacas em comparação a dados de literatura de outros sistemas. **Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa Congrega Urcamp**, 2016.

GOMES DA SILVA, Daniela. Salmonelose. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, [S.l.], v. 15, p. 109 – 112, ago. 2017. ISSN 2596-2868. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/index.php/cienciaanimal/article/view/16836>. Acesso em: 18 abril 2021.

GONÇALVES, Robson Diego Silva. **Caracterização Molecular e Fenotípica de Escherichia coli isolada de surto de diarreia em bezerros**. 2019. 35 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Fisiopatologia e Saúde Animal, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2019.

LEE, Kyunghyun, et al. “Klebsiella Pneumoniae Infection Secondary to Bovine Viral Diarrhea in Two Prematurely Born Calves.” Korean Journal of Veterinary Research, vol. 60, no. 3, **The Korean Society of Veterinary Science (KJVR)**, Sept. 2020.

MANICKAM, R.; PONNUSAMY, P. Bacterial species isolated from diarrhoeic calves and its antibiotic sensitivity pattern. International Journal of Science, **Environment and Technology**, Vol. 6, No 4, 2017.

MARQUES, Ana LA et al. Surto de salmonelose pelo sorovar Dublin em bezerros no Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 983-988, 2013.

MCVEY, D. S., KENNEDY, M., CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2016

MICHELIM, Lessandra. Abordagem biotecnológica em *Proteus mirabilis*. **Tese de Doutorado**. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2008.

MIQUEO, E. Desempenho, mortalidade e escore fecal de bezerros aleitados com diferentes dietas líquidas e terapias de reidratação quando acometidos por diarreias. **Dissertação (Mestrado)** -Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2016.

MONNEY, Jacques Danho et al. Incidences of Calf Diarrhea and the Associated Risk Factors in Ivory Coast (2015-2017). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 19, n. 4, p. 454-461, 2020.

MOURA, C. de. Caracterização de amostras de Escherichia coli isoladas de bezerros com e sem diarreia: pesquisa de fatores de colonização e toxinas. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 2005.

MUKTAR, Yimer et al. A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. **Journal of Veterinary Medicine and Animal Health**, v. 7, n. 5, p. 173-185, 2015.

OLIVEIRA FILHO, J. P. de. Diarreia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. **Dissertação (mestrado)** –Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2007.

PEREIRA, C. I. C. Diarreias Neonatais em Vitelos: estudo de agentes prevalentes de diarreias neonatais e medidas preventivas na região Sul do Tejo. **Dissertação (mestrado)** –

Universidade Lusófona de Humanidades e tecnologias, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2014.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed, 2005.

RABASSA, V. R. **Diarreia em bezerros: tratamento e prevenção**. Anais do 4º Simpósio Nacional da Vaca Leiteira – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária –Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. 169p.

RAMIREZ D, GIRON M. Enterobacter Infections. [Updated 2020 Jun 30]. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021

RAZERA, Giselle Ayres. Um estudo longitudinal da ocorrência de potenciais patógenos entéricos em fazendas com casos esporádicos e com casos recorrentes de diarreia em bezerros de corte. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. 2010.

RIET - CORREA, Franklin et al. **Doenças de ruminantes e equinos**. Varela, p. 412-413, São Paulo, 2001.

SALVADOR, S. H. M. Problemas podais em bovinos leiteiros: um estudo de caso em sistema de produção free-stall. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Zootecnia)**, Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

SANTOS, Amanda AL et al. Resistência a antimicrobianos de isolados de *Escherichia coli* obtidos de diarreia em bezerros. **XII Mostra Científica FAMEZ & I Mostra Regional de Ciências Agrárias**, Campo Grande, MS, 2019.

SANTOS, Daniella Fabíola dos. Características microbiológicas de *Klebsiella pneumoniae* isoladas no meio ambiente hospitalar de pacientes com infecção nosocomial. **Dissertação (mestrado)**. Universidade Católica de Goiás, Goiânia (GO), 2007.

SCALDAFERRI, Laura Gaspar et al. Formas de resistência microbiana e estratégias para minimizar sua ocorrência na terapia antimicrobiana: Revisão. **PUBVET**, v. 14, p. 163, 2020.

SIGNORETTI, R. D. **Práticas de manejo para correta criação de bezerras leiteiras**. Artigo Técnico. Consultoria Avançada em Pecuária. v. 21, n. 09, 2015.

SILVA, D. G. da. Estudo clínico, laboratorial e terapêutico da diarreia experimental em bezerros induzida por *Salmonella enterica* subespécie enterica sorotipo Dublin. **Tese (doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007.

SORIO, A. Cadeia Agroindustrial do Leite no Brasil: **Diagnóstico dos Fatores Limitantes à Competitividade**. Brasília: Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços, 2018.

SOUSA, M. V. et al. Aspectos clínicos e epidemiológicos da diarreia dos bezerros em Botucatu, SP. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 7, n.2, p. 74-77, 2000.

STROCKBINE, NANCY A., et al. “*Escherichia*, *Shigella* e *Salmonella*”. In: Jorgensen J.H., et al. **Manual of clinical microbiology**. 11. ed. p. 685–713. Washington ASM Press, 2015.

VARGAS JÚNIOR, S. F. Diarreia em bezerros da região sul do Rio Grande do Sul. **Dissertação (mestrado)** – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

VASCONCELOS, Artur Bibiano de et al. Ocorrência de Salmonella sp. em bezerros e perfil de resistência a antimicrobianos no Sertão Alagoano. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** - Universidade Federal de Alagoas, Viçosa - Alagoas, 2019.

VIKAS, Nehra et al. Aetio-pathological studies of digestive and respiratory affections in buffalo calves. **Haryana Veterinarian**, v. 55, n. 2, p. 170-175, 2016.

WAADE, Jil et al. Enterobactérias multirresistentes em bezerros recém-nascidos leiteiros na Alemanha. **PloS one** , v. 16, n. 3, pág. e0248291, 2021.

ZAPPA, Vanessa, et al .Antimicrobial multiple resistance index, minimum inhibitory concentrations, and extended-spectrum beta-lactamase producers of Proteus mirabilis and Proteus vulgaris strains isolated from domestic animals with various clinical manifestations of infection. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 775, 2017.

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO TÉCNICO APLICADO NA PESQUISA DE CAMPO.

DATA: ____/____/____

NÚMERO: _____

Nome: _____

Idade: _____ **Telefone:** Sim () _____ Não () _____

Nome da Propriedade: _____

Localização: _____

Número total de animais _____ **Número de bezerros** _____

Sistema de Criação () Extensivo () Semi-extensivo () Intensivo () Semi-intensivo

Piquete Maternidade () Sim () Não **Localização** () adequada () inadequada

Higiene () boa () regular () ruim

() casinhas individuais Individual () bezerreiros coletivos e fechados () bezerreiros coletivos com piquete () pasto () outro _____

() Cura Umbigo () Separa animais novos () Separa Animais Jovens de Adultos () Separa Machos de Fêmeas () Enterra ou Crema Animais Mortos () Isola Animais Doentes

Distribuição partos () outubro a março () abril a setembro () ano todo

Fornecimento de colostro sim () não () **Substituição de colostro** sim () não ()

Possui banco de colostro sim () não () **Meio de fornecimento do colostro** () mãe () mamadeira () sonda esofagiana () outro _____

Tempo entre o nascimento e o 1º aleitamento () até seis horas de vida () até doze horas de vida () após doze horas de vida () não recebe colostro

Quantidade de colostro na 1ª mamada () menos que dois litros () mais que dois litros () mama na mãe

Tempo de aparte () no momento do nascimento () 6 horas de vida () 12 horas de vida () 24 horas de vida () mais de 24 horas de vida

Método de fornecimento de leite () na mãe () na mamadeira () no balde

Frequência do fornecimento do leite/dia () 1 vez () 2 vezes 3 vezes () 4 vezes ou mais

Origem do leite () da própria mãe () de vacas com mastite () de várias vacas () sucedâneo

Desmame () antes de 2 meses () 2 meses () 3 meses () 4 meses () acima de 4 meses

Identificação do animal: _____
Raça: _____ **Idade:** _____

Comportamento () Normal () Deprimido () Apático

Escore Corporal () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Ectoparasitas () Ausente () Presente

Corrimento Nasal () Normal () Mucopurulento () Purulento

Mucosas () Normocoradas () Pálidas () Hiperacoradas () Cianóticas () Ictéricas

Escore Fecal () Pastosas () Aquosas () Mucosas () Sanguinolentas ()
Amareladas () Esverdeadas () Marrom () Esbranquiçadas () Enegrecidas ()
Odor Fétido



Grau de Desidratação () Normal () Leve () Moderado () Grave

Umbigo () Normal () Onfalite Externa () Onfalite Interna

Respiração: () Normal () Alterada **FC:** () Normal () Alterada

T°C:

APÊNDICE B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO AO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

	UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO	Centro de Ciências Agrárias Curso de Medicina Veterinária Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) Credenciamento Provisório - CONCEA/MCT Processo 01200.002200/2015-06 (449) - Emissão 19/06/2015
PROTOCOLO PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA CIENTÍFICA		
	Protocolo N° <i>30/2020</i>	Uso do CEEA
	Data de entrega <i>22/12/20</i>	Uso do CEEA
Título do Projeto Responsável Instituição Centro Departamento Laboratório	Diarreias bacterianas em bezerros leiteiros do estado do Maranhão Lucilene Martins Trindade Gonçalves Universidade Estadual do Maranhão Centro de Ciências Agrárias Departamento de Clínicas Veterinárias Laboratório de Bacteriologia Clínica Veterinária	<i>Recebi na data 22/12/2020 Lucilene M.T. Gonçalves</i>