

ÍNDICE DE RESISTÊNCIA MÚLTIPLA EM *ESCHERICHIA COLI* OBTIDOS DE CABRAS COM DIFERENTES TIPOS DE MASTITE

Juliana Freire de Figueiredo¹, Magna Coroa Lima², Maria Aparecida Scatamburlo Moreira³

Resumo: O objetivo deste trabalho avaliar o índice de resistência múltipla em *E. coli* isolados de cabras leiteiras com mastite. Foram utilizados 15 isolados de *E.coli* obtidos de 10 propriedades localizados na Zona da Mata de Minas Gerais. Animais com mastite clínica foi realizado o tratamento com enrofloxacino. Houve maior número de isolados apresentando resistência frente a cefatioxil, tetraciclina e cefalexina. Houve um maior número de isolados obtidos de mastite subclínica (quatro isolados), enquanto que na mastite clínica observou-se dois isolados e na mastite persistente apenas um apresentando índice de resistência acima do limite (>0,3). *E. coli* obtidos de mastite caprina da Zona da Mata de Minas Gerais apresentaram índice de resistência múltipla acima do limite que confere possibilidade de transferência de genes de resistência a outras bactérias.

Palavras-chave: Caprinocultura leiteira, diagnóstico, infecção-intramamária, leite, microorganismo,

¹ Graduanda em Medicina Veterinária – FAVIÇOSA/UNIVIÇOSA. e-mail: julianafreirefigueiredo@gmail.com

² Docente do Curso de Medicina Veterinária - FAVIÇOSA/UNIVIÇOSA. e-mail: magnalima@univicoso.com.br

³ Docente do Curso de Medicina Veterinária – UFV/VIÇOSA – e-mail: masm@ufv.br

Introdução

Escherichia coli é um patógeno de grande importância na mastite bovina sendo frequentemente isolada causando a mastite aguda e persistente (DOGAN et al., 2006). *E. coli* não é um patógeno frequentemente isolado de cabras com mastite, provavelmente devido a consistência das fezes e tipo de instalação utilizado, no entanto há relato da participação de *E. coli* em conjunto com outros patógenos na mastite gangrenosa (RIBEIRO et al., 2007).

Resistência antimicrobiana nos isolados de *E. coli* é particularmente preocupante porque é o patógeno gram-negativo mais comum em humanos. Uma vez que estes agentes patogênicos dos animais também podem ser transmitidos aos seres humanos através de produtos lácteos ou através do ambiente, é prudente conhecer os padrões de resistência aos antimicrobianos utilizados na medicina veterinária e humana (RASHEED et al., 2014).

O objetivo deste trabalho avaliar o índice de resistência múltipla em *Escherichia coli* isolados de cabras leiteiras com mastite.

Material e Métodos

Este projeto foi aprovado pela comissão de ética no Uso de Animais da UFV- CEUA /UFV. nº42/2014. Foram utilizados 15 isolados de *E.coli* obtidos de dez propriedades localizados na Zona da Mata de Minas Gerais. Para o isolamento foram inoculados 100 µL de leite, previamente homogeneizado, em placas de Petri contendo ágar Mac Conkey e posteriormente identificados morfotintoriais e bioquímicas (QUINN et al., 2011). Para identificação genotípica a PCR foi

realizada utilizando o primer *uspA* (5'-CCGATACGCTGCAATCAGT-3'-f e 5'-ACGCAGACCGTAGGCCAGAT-3'-r) (CHEN e GRIFFITHS, 1998) e os *amplicons* foram enviados à empresa Macrogen Incorporation (Seoul, Coréia do Sul) para sequenciamento.

O perfil de resistência foi realizado utilizando o método de difusão em disco (Kirby-Bauer) com 16 antimicrobianos: ampicilina (10 µg), enrofloxacina (10 µg), ciprofloxacina (10 µg), gentamicina (10 µg), tetraciclina (30 µg), cefatíofur (30 µg), sulfazotrim+trimetropim (25 µg), cefalexina (30 µg), cefoperazona (75 µg), cefepime (30 µg), neomicina (30 µg), rifamicina (5 µg), novobiocina (30 µg), florfenicol (30 µg), azitromicina (15 µg) marbofloxacina (5 µg). As placas foram incubadas em aerobiose a 37°C por 18 a 24 horas. O índice de resistência múltipla (IRMA) foi calculado pela razão entre o número de classes dos antimicrobianos que cada isolado foi resistente e o número total de classes testadas (10 classes). Considerou-se que índices >0,3 possui potencial de transmissão de genes de resistência (KRUMPERMAN, 1983).

Resultados e Discussão

Houve maior número de *E. coli* apresentando resistência frente a cefatíofur, tetraciclina e cefalexina, antimicrobianos normalmente utilizados no tratamento da mastite nos rebanhos estudados.

O índice de resistência múltipla (IRMA) variou de 0,2 a 0,5, nas quatro microrregiões, e em relação aos vários tipos de mastite (tabela 1). No entanto houve um maior número de isolados obtidos de mastite subclínica (quatro isolados), enquanto que na mastite clínica observou-se dois isolados e na mastite persistente apenas um apresentando índice de resistência acima do limite (>0,3).

Tabela 1 - Padrão de resistência e índice de resistência múltipla (IRMA) de *Escherichia coli* isolados de cabras leiteiras com diferentes tipos de mastite.

Padrão de Resistência	Número absoluto	Tipo de mastite (IRMA)
AMP+CIP+TET+ CFX+ CFT+ CFP+ TET	1	Persistente (0,5)
AMP+ ENO+CFX+CTF+CPM+TET+SUT	1	Clínica (0,5)
NEO+GEN+ENO+CTF+TET+SUT	1	Subclínica (0,5)
CIP+TET+ CFX+ CFT+ CFP+ TET	1	Clínica (0,4)
AMP+ ENO+CFX+CTF+SUT	1	Subclínica (0,4)
NEO+GEN+TET+NOV+RIF	2	Subclínica (0,4)
NEO+CFX+CTF	1	Subclínica (0,2)
AMP+CTF	2	Clínica e persistente (0,2)
CPM+TET	1	Subclínica (0,2)

AMP = ampicilina, NEO = neomicina, GEN = gentamicina, CIP = ciprofloxacina, ENO = enrofloxacina, CFX = cefalexina, CFT = cefatofur, CFM = Cefepime, TET = tetraciclina, SUT = sulfametoxazole/trimetoprim, e RIF = rifampicina.

Há poucos estudos sobre o impacto do uso terapêutico e profilático de antimicrobianos na seleção de resistência em *Escherichia coli*. a escassez de informações é ainda maior em relação a *E. coli* obtidos de mastite caprina.

O índice de Resistência Múltipla aos antimicrobianos (IRMA) idealizado inicialmente para avaliar a multirresistência em linhagens de *Escherichia coli* visando identificar o risco de contaminação humano de isolados com potencial de resistência

múltipla aos antimicrobianos (Krumperman, 1983). Apesar de *E. coli* não ser um agente frequentemente isolado da mastite caprina, os dados sobre IRMA encontrados no presente estudo são preocupantes devido a possibilidade de transferência de genes de resistência para outras bactérias ou a infecção por este patógeno.

Conclusões

Escherichia coli obtidos de mastite caprina da Zona da Mata de Minas Gerais apresentaram índice de resistência múltipla acima do limite que confere possibilidade de transferência de genes de resistência a outras bactérias.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasília, Brazil). Moreira é apoiada financeiramente pelo CNPq.

Referências Bibliográficas

CHEN, J., GRIFFITHS, M.W., PCR differentiation of *Escherichia coli* from other gram-negative bacteria using primers derived from the nucleotide sequences flanking the gene encoding the universal stress protein. Lett. **Appl. Microbiol.** 27, 369–371, 1998.

DOGAN, B. et al. Adherent and invasive *Escherichia coli* are

associated with persistent bovine mastitis. **Vet. Microbiol.** 116, 270–282, 2006.

KRUMPERMAN, P.H., Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Appl. Environ. Microbiol.** 46, 165–170, 1983.

QUINN, P.J. et al. 2011. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**, Second Edi. ed. Iowa , USA.

RASHEED, M.U. et al. Resistência microbiana a drogas em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de fontes alimentares. **Rev. Inst. Med. Trop.** Sao Paulo 56, 341–346, 2014.

RIBEIRO, M.G. et.al. An unusual gangrenous goat mastitis caused by *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli* co-infection. Arq. Bras. **Med. Vet. e Zootec.** 59, 810–812, 2007.