

DETECÇÃO FENOTÍPICA DE BETA-LACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO EM CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE BEZERROS DIARRÉICOS

FONSECA, S.A.¹; OLIVEIRA, L.F.¹; TAVARES, A.M.F.¹; CARMO, A.E.B.¹; DUARTE, E.R.²;
ALMEIDA, A.C.²

¹Mestrando(a) do Programa de Pós Graduação em Produção Animal da UFMG – *Campus* Montes Claros; ²Docente da UFMG – *Campus* Montes Claros.

Introdução

A diarreia em bezerros representa um desafio sanitário relevante na produção animal, resultando em prejuízos econômicos expressivos. Frequentemente causada por *Escherichia coli* enteropatogênicas, especialmente em neonatos, essa condição leva à desidratação, atraso no crescimento e aumento da mortalidade. A situação se agrava com a crescente resistência antimicrobiana, que dificulta o tratamento e compromete os desfechos clínicos (Fonseca *et al.*, 2025).

Entre os perfis de resistência mais preocupantes, destacam-se cepas de *E. coli* produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) e, que conferem resistência a diversos β -lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e cefamicinas. Esses mecanismos, frequentemente plasmidiais, favorecem a disseminação entre bactérias, representando risco à saúde pública devido à possibilidade de transmissão zoonótica e entrada na cadeia alimentar (He *et al.*, 2022).

A *E. coli* multirresistente em bezerros representa um risco à saúde animal e humana, agravado pelo uso excessivo de antibióticos na pecuária. A disseminação dessas cepas dificulta o tratamento de infecções e contribui para a crise global de resistência antimicrobiana. O controle desse problema exige uso racional de antibióticos, boas práticas de higiene e estratégias preventivas alternativas (Weber *et al.*, 2021).

Considerando a importância dos beta-lactâmicos no tratamento de infecções entéricas em bezerros, a identificação desses mecanismos é essencial para orientar terapias eficazes e conter a propagação da resistência. Diante disso, este estudo tem como objetivo detectar fenotipicamente a presença de ESBLs em cepas de *E. coli* isoladas de fezes de bezerros.

Material e Métodos

Coleta de Amostras

O estudo foi conduzido com bezerros leiteiros criados em sistemas de alojamento coletivo ou misto. Os animais eram alimentados duas vezes ao dia com leite, ração concentrada e forragem, tendo acesso livre à água. Foram incluídos bezerros de ambos os sexos que apresentavam sinais clínicos de diarreia no momento da coleta, visando a investigação de cepas potencialmente patogênicas associadas a distúrbios entéricos. As coletas foram realizadas sob condições controladas, com contenção física adequada dos animais, a fim de garantir a segurança da equipe e a padronização do procedimento. Antes da coleta, a região perianal foi higienizada com solução de

iodopovidona a 10% (PVPI), com o objetivo de reduzir a presença de contaminantes externos que pudessem comprometer os resultados microbiológicos.

Isolamento Microbiano e Identificação Bioquímica

As amostras fecais foram semeadas em placas contendo ágar MacConkey e incubadas a 37 °C por 24 horas. As colônias com morfologia compatível com *Escherichia coli* foram selecionadas para testes bioquímicos de confirmação. As características observadas incluíram: teste do indol positivo, teste de Voges-Proskauer (VP) negativo, Vermelho de Metila (VM) positivo, além de resultados negativos para produção de H₂S e utilização de citrato. A confirmação final da espécie foi realizada por meio de inoculação em meio Rugai. No total, dez cepas com perfil fenotípico compatível com *E. coli* foram selecionadas para as análises posteriores.

Deteção Fenotípica de ESBL

A detecção fenotípica da produção de ESBL foi realizada adaptando protocolo da CLSI (2023), por meio do teste de sinergismo com discos, também conhecido como teste de disco combinado. As cepas de *E. coli* isoladas foram cultivadas em meio ágar Mueller-Hinton, após ajuste da suspensão bacteriana ao padrão 0,5 da escala de McFarland. A inoculação foi feita com o auxílio de um swab estéril, garantindo cobertura homogênea da superfície da placa. Em seguida, foi posicionado um disco de amoxicilina-clavulanato (AMC - 20/10 µg) no centro da placa, e ao redor deste, a uma distância de 20 mm (medida de borda a borda), foram colocados os discos de ceftriaxona (CRO - 30 µg), aztreonam (ATM - 30 µg) e ceftazidima (CAZ - 30 µg). As placas foram incubadas a 35 °C por um período de 18 horas. A produção de ESBL foi considerada positiva quando se observou o alargamento das zonas de inibição dos antibióticos cefalosporínicos em direção ao disco de amoxicilina-clavulanato, formando o típico padrão em “buraco de fechadura”, resultado da inibição enzimática mediada pelo clavulanato. Utilizou-se a cepa *E. coli* ATCC 8739 como controle de qualidade dos ensaios.

Resultados e Discussão

Os resultados (Tabela 1) indicaram que 90% (9/10) dos isolados de *E. coli* foram sensíveis aos β-lactâmicos amoxicilina-clavulanato e ceftazidima, e 100% sensíveis a ceftriaxona. Apenas um isolado (F1F) apresentou resistência ao amoxicilina-clavulanato e sensibilidade intermediária ao ceftazidima. Quanto ao aztreonam, observou-se sensibilidade em 50% (5/10) dos isolados, enquanto os demais (5/10; 50%) apresentaram perfil intermediário.

Todos os isolados testaram negativo para a produção de β-lactamases de espectro estendido (ESBL), o que sugere a ausência dessa enzima de resistência na amostra analisada. De modo geral, os dados revelam um perfil de sensibilidade antimicrobiana amplamente preservado entre os isolados, com exceção do isolado F1F, cujo fenótipo sugere a presença de mecanismos alternativos de resistência - como a produção de β-lactamases clássicas (por exemplo, TEM-1 ou SHV-1) ou alterações na permeabilidade da membrana. A ausência de ESBL reforça a baixa frequência dessa resistência no grupo estudado, destacando a importância da vigilância contínua para a detecção precoce de variantes emergentes.

Bactérias produtoras de ESBL em ruminantes representam um risco à saúde pública por sua resistência a antibióticos críticos. Os genes que codificam essas enzimas estão frequentemente em elementos móveis, facilitando sua disseminação entre bactérias e até para humanos, por contato direto, alimentos ou ambiente. Essa resistência agrava a crise da resistência aos antimicrobianos,

afetando tratamentos em humanos e animais. Uso racional de antibióticos, vigilância e biossegurança são essenciais para conter esse avanço (Shafiq *et al.*, 2022).

Considerações finais

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que os isolados de *E. coli* avaliados apresentam, em sua maioria, um perfil de sensibilidade preservado frente aos β -lactâmicos testados, com ausência de produção de ESBL. No entanto, a detecção de um isolado com resistência ao amoxicilina-clavulanato e sensibilidade reduzida ao ceftazidima, bem com um elevado número de cepas com sensibilidade reduzida ao aztreonam acende um alerta para possíveis mecanismos alternativos de resistência. Considerando o potencial de disseminação dos genes de ESBL e o impacto dessa resistência na saúde pública e animal, reforça-se a necessidade de estratégias integradas de vigilância, uso criterioso de antimicrobianos e medidas eficazes de biossegurança para conter a emergência e propagação de cepas resistentes.

Agradecimentos

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais pelo apoio e incentivo à realização deste trabalho.

Referências

- WEBER, L. P.; et al. Prevalence and Risk Factors for ESBL/AmpC-E. coli in Pre-Weaned Dairy Calves on Dairy Farms in Germany. **Microorganisms**, v. 9, n. 10, out. 2021.
- HE, Z.; et al. Gut microbiota-derived ursodeoxycholic acid from neonatal dairy calves improves intestinal homeostasis and colitis to attenuate extended-spectrum β -lactamase-producing enteroaggregative *Escherichia coli* infection. **Microbiome**, v. 10, n. 1, mai. 2022.
- FONSECA, S. A.; et al. Analysis Of Biofilm Formation By *Escherichia Coli* Strains Isolated From Calves Feces. **Journal Of Agriculture and Veterinary Science**, v. 18, n. 5, mai. 2025.
- CLSI (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd ed. CLSI supplement M100.
- SHAFIQ, M.; et al. Incidence and molecular characterization of ESBL-producing and colistin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from healthy food-producing animals in Pakistan. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 3, set. 2022.

Tabela 1. Fenótipos de Sensibilidade a Antimicrobianos β -lactâmicos e Produção de ESBL em Isolados de *E. coli*

Cepa	AMC	CAZ	CRO	ATM	ESBL
FXX	S	S	S	I	Negativo
F2E	S	S	S	S	Negativo
F2G	S	S	S	S	Negativo
F2D1	S	S	S	S	Negativo
ICA7	S	S	S	S	Negativo
ICA5	S	S	S	I	Negativo
F1C	S	S	S	I	Negativo
F1E	R	I	S	I	Negativo
F1F	S	S	S	I	Negativo
F1G	S	S	S	S	Negativo
ATCC 8739	R	S	I	I	Negativo

Fonte: Autores (2025).