

DETECÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA EM *Escherichia coli* ISOLADAS DE INFECÇÕES SUBCLÍNICAS DE MASTITE BOVINA

RIBEIRO, M. R.¹; COSTA, G.M.²; SILVA, N.^{1*}

INTRODUÇÃO

A diversidade dos fatores de virulência apresentada por *Escherichia coli*, em isolados de infecções de glândula mamária, tem chamado a atenção e despertado preocupações quanto ao grau de envolvimento dos mesmos nos mecanismos de infecção que resultam em quadros de mastite bovina. O presente estudo visou à detecção de genes envolvidos na colonização celular da glândula mamária nesses rebanhos utilizando a técnica de PCR Multiplex.

MATERIAL E MÉTODOS:

Foram trabalhadas 46 amostras de *E. coli* isoladas de casos subclínicos de mastite em 35 rebanhos bovinos leiteiros da região Sul de Minas Gerais. O DNA foi extraído por fervura a 100°C por 15 minutos, seguido de centrifugação por 5 minutos a 10.000 rpm e o sobrenadante usado diretamente como molde para a realização da PCR (Wani et al., 2003). Os genes *stx1*, *stx2* e *eaeA* foram detectados utilizando os *primers* e as condições descritas por China et al. (1996). Para a detecção e amplificação dos genes de interesse foram utilizados para cada reação: 1U de Taq Polymerase (Phonetrutria), 5µL de Tampão 10X, 0,5 µL de cada primer (20 pmol), 5 µL de dNTPS e 5µL de DNA bacteriano, com um volume final de 50 µL. Óleo mineral (30 µL) foi adicionado ao topo da mistura. As reações de amplificação foram submetidas a 94°C por 5 minutos, 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos em Termociclador (MJ Research, modelo MiniCycler™). Os produtos de DNA amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Das 46 amostras analisadas, 24 (52,2%) foram positivas. Dessas, 12 (50%) foram positivas para o gene *stx1* (Figura 1), sete (29,2%) para o gene *stx2* e cinco (20,8%) para o gene *eaeA*. Em nenhuma das amostras de *E. coli* isoladas de mastites subclínicas nos rebanhos estudados foi detectado mais que um gene envolvido em seus fatores de virulência. Neste estudo foram encontradas 19 (79,2%) das amostras de *E.coli* produtoras de shiga toxina (STEC), destacando-se a maior prevalência de amostras apresentando o gene *stx1*, conforme também relatado por outros autores (Wani et al. 2003; Bean et al., 2004). O gene *stx1* foi o mais presente dentre as 46 amostras de *E. coli* isoladas de casos subclínicos de mastite nos rebanhos estudados. Para a caracterização dos fatores de virulência de *E.coli* isoladas de mastite bovina, a técnica de PCR Multiplex, mostrou-se um método bastante rápido e específico.

1- Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos, 6.627 – Pampulha 30270-010- Belo Horizonte – MG) nivsilva@gmail.com

2- Departamento de Medicina Veterinária- Universidade Federal de Lavras

BIBLIOGRAFIA:

BEAN, A.; WILLIAMSON, J.; CURSONS, R.T. Virulence Genes of *Escherichia coli* Strains Isolated from Mastitic Milk. *J. Vet. Med.* B-51, p. 285-287, 2004.

CHINA, B.; PIRSON, V.; MAINIL, J. Typing of bovine attaching and effacing *Escherichia coli* by multiplex in vitro of virulence-associated genes. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 62, p. 3462-3465, 1996.

WANI, S.A., BHAT, M.A., SAMANTA, I., et al.. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from calves and lambs with diarrhoea in India. *Lett. Appl. Microbiol.*, v. 37, p. 121–126, 2003.

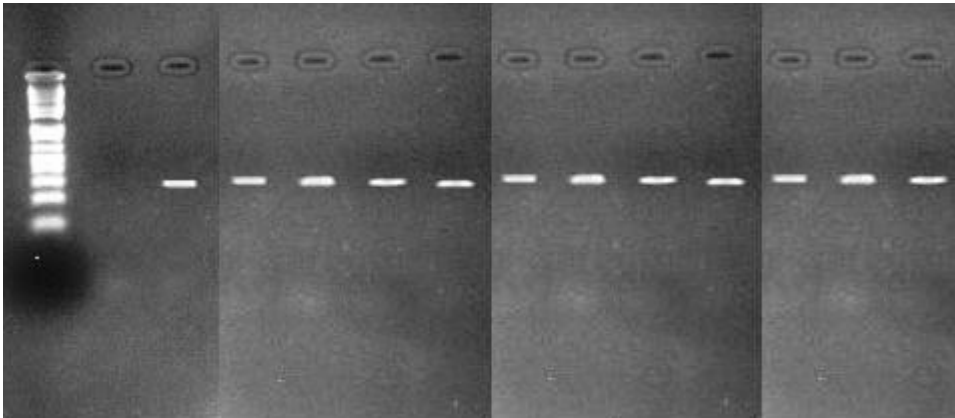


Fig. 1 - PCR Multiplex, para detecção da presença do gene stx1 em amostras de DNA extraído de *Escherichia coli* isoladas de casos subclínicos de mastite.