Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2020; 10:1-14. http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.37 Artículo Original. Recibido: 06/07/2020. Aceptado: 26/11/2020. Publicado: 17/12/2020. Clave:2020-57.

Microbiota vaginal e suscetibilidade quimioterápica em cabras crioulas

Vaginal microbiota and antimicrobial susceptibility in creole goats

Wilfrido Flores-Hernández ^{ID}, Gabriela Luna-Castro ^{ID}, Luz Peña-Avelino ^{ID}, Hugo Barrios-García ^{ID}, Jorge Alva-Pérez ^{ID}

Facultad de Medicina Veterinaria "Dr. Norberto Treviño Zapata". Universidad Autónoma de Tamaulipas. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. Autor responsável e para correspondência: Jorge Alva-Pérez. Carretera Victoria-Mante km 5. CP. 87000, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. wii_09@hotmail.com, sarahi.luna@docentes.uat.edu.mx, lypena@docentes.uat.edu.mx, hbarrios@docentes.uat.edu.mx jalva@docentes.uat.edu.mx

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a microbiota aeróbia vaginal de cabras crioulas, bem como o perfil de suscetibilidade aos quimioterápicos. Amostras da mucosa vaginal foram coletadas de 51 cabras saudáveis em idade reprodutiva usando cotonetes estéreis. As amostras foram processadas segundo técnicas padrão de identificação bacteriológica. O isolamento bacteriano foi obtido em 41,2% das amostras. As bactérias mais frequentemente isoladas foram cocos Gram positivos (GP) (65,6%), os principais gêneros identificados foram *Staphylococcus* spp. (31,2%) e *Aerococcus* spp. (21,9%). Em relação às bactérias Gram negativas (GN), os isolados corresponderam a *Escherichia coli* (15,6%). Do perfil de resistência aos antibióticos, os isolados de *Aerococcus* e *Corynebacterium jeikeium*, em proporção, foram os mais suscetíveis aos antibióticos analisados contra bactérias GP. Os antibióticos com menor perfil de resistência aos isolados de GP foram dicloxacilina, cefotaxima e ampicilina. Os isolados de *E. coli* mostraram-se altamente resistentes a todos os antibióticos testados (95%), sendo a ciprofloxacina o antibiótico com menor resistência (60%). Os achados deste trabalho destacam a importância da microbiota vaginal em cabras crioulas como agentes ecológicos com potencial patogênico, além de demonstrar a alta resistência dessas bactérias aos agentes quimioterápicos.

Palavras-chave: produção caprina, microbiota vaginal, susceptibilidade aos antimicrobianos.

ABSTRACT

This work's aim was the aerobic vaginal microbiota determination of creole goats and its antimicrobial susceptibility. Vaginal cotonetes were taken of 51 healthy female goats in reproductive age. Samples were processed under standard bacteriological conditions. Bacterial isolation was achieved in 41.2% of the samples. Gram-positive (GP) cocci were the most abundant bacteria recovered (65.6%), the principal genera detected were *Staphylococcus* spp. (31.2%) and *Aerococcus* spp. (21.9%). *Escherichia coli* was the only Gram-negative (GN) genus detected. In the antimicrobial susceptibility test *Aerococcus* and *Corynebacterium jeikeum* were the most susceptible GP bacteria. Dicloxacillin, cefotaxime, and ampicillin had the lowest resistance pattern on GP bacteria. On the other hand, *E. coli* isolates showed high resistance to all antibiotics (95%), except for ciprofloxacin (60%). This work findings exhibit the importance of vaginal microbiota of creole goats as potential pathogenic ecological agents, as well as it showed the high antimicrobial resistance pattern of this bacteria.

Keywords: goat production, vaginal microbiota, antimicrobial susceptibility.

INTRODUÇÃO

A microbiota é a população, residente ou transitória, de microrganismos e vírus que vivem no epitélio dos animais, formando um ecossistema (Pascale *et al.*, 2018). Neste ecossistema, procariotos (principalmente bactérias, embora também existam arqueas) são os organismos mais abundantes. Geralmente, esses microrganismos vivem em estado de simbiose com o hospedeiro. Por outro lado, o desequilíbrio do meio ambiente e do sistema imunológico pode desencadear efeitos negativos na saúde dos hospedeiros, e alguns microrganismos da microbiota podem se tornar patogênicos (Maynard *et al.*, 2012; Belkaid *et al.*, 2013). Em ruminantes, é bem conhecido o papel da microbiota ruminal na digestão da celulose, o que permite a obtenção de energia para esses animais (Henderson *et al.* 2015).

Foi determinado que a microbiota vaginal (MV) em ruminantes varia de acordo com o estado fisiológico/reprodutivo, ciclo estral e em menor grau por raça (Giannattasio-Ferraz et al., 2019; Manes et al., 2018). Em ovinos e caprinos, a análise da MV tem ganhado relevância nos últimos anos, devido ao uso de tecnologias reprodutivas (uso de progestágenos, prostaglandinas e gonadotrofinas), principalmente na pecuária intensiva (Suárez et al., 2006; Martins et al., 2009; Penna et al., 2013; Oliveira et al., 2013; Manes et al., 2013; Manes et al., 2018). A composição do MV em caprinos é parcialmente conhecida; Foi relatado que é composto principalmente por bactérias Gram positivas (GP) e em menor grau Gram negativas (GN) (Manes et al., 2013). Em cabras, a mudança na composição da MV devido ao uso de dispositivos vaginais contendo progestagênios tem sido associada à vaginite e infertilidade (Penna et al., 2013).

No México, a produção caprina está vinculada a classes sociais de baixa renda econômica, seguindo um modelo primordialmente de subsistência ((Pinos-Rodríguez et al., 2015). Em Tamaulipas, no México, a produção caprina é voltada para a produção de cabritos desmamados de 21 dias. O tipo de produção característica do nordeste do México é um extenso sistema dependente dos recursos naturais da região (Alva-Pérez et al., 2019). Embora caprinos sejam animais rústicos, adaptáveis a diferentes condições ambientais, problemas de fertilidade e concepção em caprinos são comuns na produção (Salinas-González et al., 2016). O conhecimento da MV em cabras crioulas pode revelar a população bacteriana oportunista, que pode desencadear vaginite clínica e subclínica. Esse conhecimento pode fornecer a base para determinar o grau de envolvimento de infecções do sistema reprodutor em problemas de produção em cabras. Além disso, o conhecimento do perfil de susceptibilidade quimioterápica das bactérias que compõem a MV contribui para aprimorar o tratamento dessas infecções.

MATERIAL E MÉTODOS

Manejo animal e local de amostragem. O presente trabalho foi realizado no município de Jaumave, Tamaulipas localizado entre os paralelos 23º 53´ e 23º 04´ de latitude norte, e os meridianos 99º 41´ e 99º 10´ de longitude oeste, com altura média de 735 metros acima do nível do mar. A orografia é principalmente montanhosa, com um clima semiseco semi-quente com chuvas no verão (INEGI, 2010). O inventário caprino neste município registrado em 2018 era de 3.931 cabeças (SIAP, 2019). Cinco unidades de produção (UP) foram amostradas durante o mês de junho de 2019. Em cada UP foram realizadas 10 coletas, exceto a última, em que foram realizadas 11 coletas, totalizando 51 amostras de cotonetes vaginais. Os rebanhos caprinos apresentam uma população que mescla várias raças (população crioula), com predomínio dos encastes Boer, Alpino, Nubia e Toggenbourgh (Alva-Pérez et al., 2019). Os critérios de inclusão foram mulheres saudáveis em idade reprodutiva (2 a 4 anos). O critério de exclusão foi mulheres doentes ou grávidas. A amostragem foi realizada dentro dos padrões éticos de bem-estar animal. e foi autorizada pelo Comitê de Bioética e Bem-Estar Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica da Universidade Autônoma de Tamaulipas (ofício número CBBA_19_05).

Coleta e processamento de amostras. Nas mulheres selecionadas, a contenção física momentânea foi realizada com o mínimo de estresse possível, para inserir um cotonete estéril no vestíbulo vaginal. As zaragatoas foram esfregadas suavemente nas paredes da mucosa vaginal para posteriormente serem colocadas num meio de transporte estéril (Meio de cultura desidratado: meio de transporte amies; BD Difco, Maryland EU). Os cotonetes foram mantidos refrigerados até o processamento, em um período não superior a 12 horas. Todo o processamento bacteriológico das amostras foi realizado no Laboratório de Diagnóstico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica da Universidade Autônoma de Tamaulipas. Para o isolamento e identificação dos microrganismos, os cotonetes foram semeados em ágar sangue (ágar sangue base; Becton Dickinson-Bioxon, Querétaro México) e ágar tripticaseína soja (BD Difco, Maryland USA). As amostras foram incubadas em condições aeróbias, 37 °C por 24 a 48 horas.

Os diferentes isolados foram identificados macroscopicamente (morfologia colonial, produção de pigmentos e hemólise) e microscopicamente (coloração de Gram). A identificação bacteriana final foi realizada através dos seguintes testes bioquímicos: catalase (peróxido de hidrogênio; Merck, Darmstadt Germany), oxidase (n, n, n´, n´-tetrametil-1,4-fenilenodiamina, Biomerieux México, Estado de México), vermelho de metila-Voges Proskauer (Becton Dickinson Bioxon, Querétaro México), redução de nitrato (BD Difco, Maryland EU), urease (Caldo ureia; Becton Dickinson-Bioxon, Querétaro México), indol, sulfeto de hidrogênio e motilidade (Meio SIM; Dibico, Estado de México México), crescimento em ágar McConkey (BD Difco, Maryland EU), ferro-açúcar triplo

(ágar Ferro e triplo açúcar, Becton Dickinson-Bioxon, Querétaro México), citrato (Agar Citrato BBL Simmons; Becton Dickinson, Le Point de Claix França) e uso dos seguintes carboidratos: maltose, manitol, xilose, lactose e sorbitol (todos da Becton Dickinson Bioxon, Querétaro México, preparados com vermelho de fenol, caldo de base vermelha de fenol BD Difco, Maryland EU). A identificação foi realizada seguindo os padrões do manual de identificação bacteriana de Cowan e Steel (Barrow e Feltman, 2004).

Suscetibilidade a quimioterápicos. Os isolados foram avaliados em diferentes antibióticos, através do método de disco difusão (Humphries et al. 2018). Ele é descrito resumidamente a seguir. De cada isolamento em cultura pura foram selecionadas 3 UFCs, semeadas em caldo de tripticaseína de soja (BD Difco, Maryland EU) e incubadas a 37º C com agitação (200 rpm). O tempo de incubação variou para cada isolado, até a obtenção de um inóculo equivalente ao padrão 0,5 de McFarland (0,05 ml de BaCl₂ a 1% [Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri Estados Unidos] e 9,95 ml de H₂SO₄ a 1% [Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Estados Unidos]) de turbidez, correspondendo a 1 a 2 x 10⁶ CFU/ml em bactérias GP e 5 x 108 CFU/ml em bactérias GN. 1ml de cada isolado foi semeado em ágar Müller-Hinton (MH, BD Difco, Marylando EU). Os seguintes sensidisks (Diagnostic Research; Mexico City, Mexico) foram usados: ampicilina (10 µg, Staphylococcus spp.: Fenótipo resistente (RF): <28 mm; fenótipo suscetível (FS):> 29 mm; outros gêneros bacterianos: FR: <21 mm; FS:> 22 mm), Cefalotina (30 µg, FR: <14 mm, FS:> 15 mm), Cefotaxima (30 µg, FR: <14 mm, FS:> 15 mm), ciprofloxacina (5 µg, RF: <15 mm, FS:> 16 mm), clindamicina (30 µg, RF: <14 mm, FS:> 15 mm), dicloxacilina (1 μg, RF: <10 mm), FS:> 11 mm), eritromicina (15 μg, RF: <13 mm, FS:> 14 mm), gentamicina (10 µg, FR: <12 mm, FS:> 13 mm), penicilina (10 U, Staphylococcus spp.: FR: <28 mm, FS:> 29 mm, outros gêneros GP: FR: <14 mm; FS:> 15 mm), sulfametoxazol-trimetoprim (25 µg, FR: <10 mm, FS: > 11 mm), tetraciclina (30 µg, FR: <14 mm, FS:> 15 mm), vancomicina (30 µg, FR: <14 mm, FS:> 15 mm), cloranfenicol (30, μg, FR: <12 mm, FS:> 13 mm), Carbenicilina (100 μg, FR: <18 mm, FS:> 19 mm), Netilmicina (30 μg, FR: <12 mm, FS: > 13 mm), nitrofurantoína (300 μg, FR: <14 mm, FS:> 15 mm), norfloxacina (100 µg, FR: <18 mm, FS:> 19 mm) e amicacina (30 µg, FR: <14 mm, FS:> 15 mm). Os quimioterápicos clindamicina, dicloxacilina, eritromicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina foram testados apenas em isolados de GP; enquanto cloranfenicol, carbenicilina, netilmicina, nitrofurantoína, norfloxacina e amicacina foram testados apenas em isolados GN. As zonas de inibição em cada sensidisc foram medidas com régua após 16 a 18 h de incubação a 37 °C. Isolados com suscetibilidade intermediária foram considerados resistentes, pois essas populações bacterianas apresentam subpopulações de bactérias resistentes que irão transmitir esse fenótipo para bactérias suscetíveis (Hombach et al. 2013; Maurer et al. 2014).

Análise estatística. Os resultados da identificação bacteriana das diferentes amostras são apresentados por meio de estatísticas descritivas e tabelas de frequência. Para os resultados do teste de susceptibilidade quimioterapêutica, foram construídas tabelas de contingência com o teste do qui-quadrado com um nível de significância de P <0,05 usando o procedimento PROC FREQ do programa SAS (2002, v9.0. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA) para conhecer as percentagens de resistência. Além disso, foi realizada uma análise de variância num modelo linear generalizado utilizando o PROC GLM e o teste de diferença mínima significativa (LSD, teste exato de Fisher) para a comparação do perfil de resistência entre antibióticos com P <0,05. Para esta análise, os valores percentuais foram convertidos em valores no intervalo de 0 a 1.

RESULTADOS

Isolamento e identificação bacteriana. Das 51 amostras, apenas 21 (41,2%) foram positivas ao isolamento bacteriológico. Dessas 21 amostras, 32 bactérias foram isoladas e identificadas (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação e frequência de isolados bacteriológicos em amostras vaginais de cabras.

	Frequência
Bactéria Gram positivas	•
Staphylococcus spp.	31.2% (10/32)
Aerococcus spp.	21.9% (7/32)
Corynebacterium jeikeium	15.6% (5/32)
Staphylococcus chromogenes	6.3% (2/32)
Corynebacterium renale	3.1% (1/32)
Staphylococcus xylosus	3.1% (1/32)
Streptococcus spp.	3.1% (1/32)
Bactéria Gram negativas	
Escherichia coli	15.6% (5/32)

Suscetibilidade a quimioterápicos. Na análise do perfil de resistência antimicrobiana para bactérias GP, vale ressaltar que todos os isolados foram resistentes à eritromicina e tetraciclina (Tabela 2). Isolados de *Staphylococcus* spp. apresentou um percentual geral de resistência de 87,5% (χ^2 = 18,51, p = 0,0704), sendo a penicilina o antibiótico com menor resistência (70%). Os dois isolados de *S. chromogenes* apresentaram a menor resistência entre os antibióticos testados (70,8%), sem diferença entre eles (χ^2 = 16,73, p = 0,1158). Os isolados de *C. renale*, *S. xylosus* e *Streptococcus* spp., eles tinham porcentagens de resistência de 83,3% (χ^2 = 12,0, p = 0,3636), 91,7% (χ^2 = 12,0, p = 0,3636) e 83,3% (χ^2 = 12,0, p = 0,3636), respectivamente. Por outro lado, isolados do gênero *Aerococcus* spp. (resistência 80,9%) apresentou menor resistência à dicloxacilina (28,6%, χ^2 = 22,85, p = 0,0185), em comparação com os outros antibióticos. Da mesma

forma, isolados de *C. jeikeium* apresentaram menor porcentagem de resistência à cefotaxima e ampicilina (20% e 40%, respectivamente χ^2 = 34,9, p <0,001) em comparação com os outros antibióticos. Para essas bactérias, a resistência foi de 85%. Nas condições deste trabalho, os isolados de GP apresentaram perfil de resistência de 83,2%.

Para Enterobacteriaceae (isolados GN) o percentual geral de resistência foi de 95%, a maioria dos antibióticos testados apresentou resistência de 100%, com exceção da ciprofloxacina (60%) e da nitrofurantoína (80%), cuja resistência foi inferior a resto de antibióticos (p <0,05, Tabela 3).

A comparação entre os perfis de resistência mostra que a dicloxacilina foi mais eficaz entre as bactérias GP (0,59, Tabela 3), semelhante ao perfil de resistência da ampicilina (0,63) e cefotaxima (0,77). A resistência média geral para antibióticos testados contra bactérias GP foi de 0,84, enquanto a resistência média geral para antibióticos testados contra bactérias GN foi de 0,95.

Tabela 2. Porcentagem de resistência em isolados vaginais de cabras crioulas

Bactérias	(n)%	(n)% Quimioterápico											
Gram +		AMP	CEF	CFT	CIP	CLI	DIC	ERI	GEN	PEN	STM	TET	VAN
Staphylococcus spp.	(10) 37	80	90	100	80	90	80	100	80	70	100	100	100
Aerococcus spp.	(7) 25.9	57.2	71.4	85.7	85.7	100	28.6	100	85.7	85.7	71.4	100	100
C. jeikeium	(5) 18.5	40	100	20	100	100	100	100	100	100	100	100	60
S. chromogenes	(2) 7.4	50	0	0	100	100	0	100	100	50	100	100	100
C. renale	(1) 3.7	0	100	100	100	100	100	100	0	100	100	100	100
S. xylosus	(1) 3.7	100	100	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100
Streptococcus spp.	(1) 3.7	100	100	100	100	0	100	100	0	100	100	100	100
Gram -		AMP	CEF	CFT	CIP	CLO	CAR	NET	GEN	NIT	NOT	STM	AMI
Escherichia coli	(5) 100	100	100	100	60	100	100	100	100	80	100	100	100

AMP: ampicilina, CEF: cefalotina, CFT: cefotaxima, CIP: ciprofloxacina, CLI: clindamicina, DIC: dicloxacilina, ERI: eritromicina, GENE: gentamicina, PEN: penicilina, STM: sulfametoxazol-trimetracilina, tetra-ciclanaciclina: tetra-ciclanaciclina, TENE: penicilina, STM: sulfametoxazol- trimetroprim, TET: tetraciclina, VAN: vancomicina CLO: cloranfenicol, CAR: carbenicilina, NET: netilmicina, NIT: nitrofurantoína, NÃO: norfloxacina e AMI: amicacina.

DISCUSSÃO

Isolamento e identificação bacteriana.

As condições ambientais da MV dos ruminantes favorecem o desenvolvimento duma microbiota de acordo com o desenvolvimento fisiológico. Essa população não permite, em geral, o desenvolvimento de microrganismos patogênicos ou saprofíticos (Otero *et al.*, 2000). O comprometimento da integridade da mucosa vaginal, assim como as alterações da microbiota, podem desencadear infecções ascendentes do trato urogenital,

colocando em risco a saúde reprodutiva de cabras (Ababneh e Degefa, 2006), vacas (Otero et al., 2000) e ovelhas (Sargison et al., 2007).

Bactérias		Quimioterápico												
	AMP	CEF	CFT	CIP	CLI	DIC	ERI	GEN	PEN	STM	TET	VAN	EPM (<i>P</i>)	
Gram +	0.63 ^{cd}	0.81 ^{abc}	0.77 ^{cd}	0.85 ^{ab}	0.93 ^{ab}	0.59 ^d	1.0 ^a	0.81 ^{abc}	0.81 ^{abc}	0.93 ^{ab}	1.0 ^a	0.93 ^{ab}	0.124 (0.0001)	
	AMI	AMP	CAR	CEF	CFT	CIP	CLO	GEN	NET	NIT	NOT	STM	EPM (<i>P</i>)	
Gram -	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	0.6 ^b	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	0.8 ^b	1.0 ^a	1.0 ^a	0.002	

Tabela 3. Comparação do padrão de resistência entre antibióticos

AMP: ampicilina, CEF: cefalotina, CFT: cefotaxima, CIP: ciprofloxacina, CLI: clindamicina, DIC: dicloxacilina, ERI: eritromicina, GENE: gentamicina, PEN: penicilina, STM: sulfametoxazol-trimetroprim, TET tetraciclina, VAN: vancomicina, CLO: cloranfenicol, CAR: carbenicilina, NET: netilmicina, NIT: nitrofurantoína, NÃO: norfloxacina e AMI: amicacina. EPM: erro padrão da média. Os valores médios com o mesmo sobrescrito não são significativamente diferentes. Os dados percentuais foram transformados para serem analisados pelo teste exato de Fisher.

Dos cotonetes vaginais, 41,2% das amostras apresentaram crescimento bacteriológico. Manes et al., 2013 relataram 52% de amostras positivas para isolamento em cabras Saanen em fase reprodutiva, enquanto Penna et al., 2013 relataram 77% de amostras positivas em cabras Saanen em estado de anestro gestacional. Por outro lado, Oliveira et al., 2013 relataram 100% de isolamento bacteriano em cabras anéstricas Toggenbourgh, enquanto Ababneh e Degfa 2006 relataram 75% de isolamento em cabras Baladi pós-parto. Esses diferentes resultados indicam a alta variabilidade do isolamento bacteriano que pode ser devido à raça, estado reprodutivo e estado fisiológico. Esta pesquisa mostra que, em cabras crioulas, sem uma definição aparente de sazonalidade reprodutiva, o isolamento da microbiota bacteriana aeróbia não é superior a 50%. Mais estudos são necessários para vincular o status fisiológico e o perfil racial ao isolamento bacteriológico.

Neste estudo, é mostrado que a população bacteriana aeróbia predominante em cabras crioulas saudáveis foi a bactéria GP (84,4%) e em menor grau a bactéria GN (15,6%). Vários estudos concordam com nossos resultados. Manes *et al.*, 2013 isolaram 77% das bactérias GP em cabras Saanen antes da inserção da esponja vaginal com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona para sincronização do estro; enquanto Penna *et al.*, 2013 isolaram 71,3% das bactérias GP, sendo o *Staphylococcus* coagulase negativo (CoNS) a principal bactéria isolada. Esse achado coincide com nosso trabalho, visto que o maior número de bactérias isoladas pertencia ao gênero *Staphylococcus* spp. (31,2%), somado ao isolamento de *S. chromogenes* (6,3%) e *S. xylosus* (3,1%). Oliveira *et al.*, 2013 também isolaram *Staphylococcus* spp., em 63,6% dos cotonetes vaginais em

cabras anéstricas. Esses achados podem indicar que o gênero *Staphylococcus* é um habitante primário do MV em caprinos. Não foi relatada a presença de vaginite nestes animais associados a este gênero bacteriano (Oliveira *et al.* 2013), como ocorre em outras espécies (Deng *et al.*, 2019; Shea *et al.*, 2019), indicando que nestes os hospedeiros podem ser patógenos oportunistas.

O segundo grupo bacteriano isolado de cotonetes vaginais foi *Aerococcus* spp., com um percentual de 21,9%. Essa bactéria GP foi associada a infecções urinárias oportunistas em bovinos (Liu *et al.*, 2019). Sua presença já havia sido relatada na mucosa vaginal de cabras, sem sinais de infecção (Meekins *et al.*, 2017). Isso pode indicar que, como Staphyloccocus spp, o gênero Aerococcus é um habitante normal da mucosa vaginal em cabras.

Em proporção, os isolados de *C. jeikeium* e *E. coli* foram semelhantes (15,6%). *C. jeikeium*, bacilo GP, tem sido relacionado à mastite subclínica em ovelhas (Queiroga, 2017). Não há relatos da presença desse bacilo em cabras e, com base na frequência de isolamentos dessa bactéria neste estudo, é provável que faça parte da MV nativa de cabras crioulas no nordeste do México. Em contraste, *E. coli* é uma enterobactéria amplamente distribuída, é a principal bactéria que faz parte da microbiota intestinal em animais domésticos (exceto pássaros). O isolamento desta Enterobacteriaceae de regiões anatômicas fora do intestino está relacionado a infecções patogênicas e oportunistas (Gyles e Fairbrother, 2010). Em ruminantes, foi relacionado como causa de aborto e infecções urogenitais (Sargison *et al.*, 2007). Em cabras, essa enterobactéria tem sido relatada tanto na ausência de vaginite quanto em processos inflamatórios (Martins *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2013). A presença de *E. coli* neste trabalho pode, portanto, sugerir colonização oportunista.

O isolamento de *C. renale* pode representar um achado incidental, uma vez que não foi relatado anteriormente como parte da MV em caprinos. No entanto, esse organismo pode causar várias infecções urinárias em cabras e ovelhas, embora seja raro (Moore *et al.*, 2010). Além disso, tem sido isolado em vacas clinicamente saudáveis, comportando-se como patógeno oportunista, produzindo cistite, uretrite e pielonefrite (Yeruham *et al.*, 2006), devido à sua adaptabilidade ambiental (Moore *et al.*, 2010). O isolamento de *C. renale* na mucosa vaginal de cabras crioulas pode, como a *E. coli*, representar a colonização de uma bactéria oportunista.

Finalmente, *Streptococcus* spp., foi encontrado em uma proporção baixa (3,1%), em comparação com os outros cocos GP. Penna *et al.*, 2013 relataram o isolamento desses agentes em 51,1% em cotonetes vaginais, antes da inserção da esponja vaginal, indicando que essas bactérias fazem parte da MV. Por outro lado, este gênero bacteriano tem sido amplamente relacionado como um patógeno caprino produtor de mastite (Steward *et al.*, 2017). Não foi relatada a presença de vaginite ou infecções do trato

urinário devido à espécie *Streptococcus* spp. É provável que o achado neste trabalho corresponda evidentemente à VM, conforme sugerido por Penna *et al.*, 2013.

Suscetibilidade à quimioterapia

Neste trabalho, diferentes perfis de susceptibilidade a antibióticos foram mostrados, tanto para bactérias GP quanto para GN. A diferença de suscetibilidade entre esses dois grupos bacterianos (83,2% do GP versus 95% do GN) deve ser considerada com reserva, pois nas GN as bactérias foram isoladas em menor quantidade nos cotonetes. Porém, vale ressaltar a alta resistência dos isolados à ação dos antibióticos, visto que estes fazem parte da MV e, portanto, não foram submetidos extensivamente à antibioticoterapia.

Dos antibióticos testados, a eritromicina e a tetraciclina mostraram-se completamente ineficazes contra os isolados de GP, enquanto todos os antibióticos testados contra GN foram ineficazes, exceto para ciprofloxacina e nitrofurantoína. Nesse sentido, Oliveira et al., 2013 e Penna et al., 2013 consideram que o uso irrestrito de antibióticos na promoção do crescimento, bem como no tratamento de doenças diarreicas e respiratórias de animais jovens, pode predispor à disseminação da resistência, como foi evidenciado para bacilos GN (Moghaddam et al., 2015).

Do perfil de resistência em GP, S. chromogenes, S. xylosus, C. renale e Streptococcus spp., eles mostraram ser completamente suscetíveis a pelo menos um antibiótico. Adicionalmente, os isolados dos gêneros Aerococcus e C. jeikum apresentaram as maiores suscetibilidades testadas à dicloxacilina e à cefotaxima e ampicilina, respectivamente. Destes medicamentos, apenas a ampicilina foi relatada como altamente eficaz contra isolados bacterianos (principalmente contra Staphylococcus spp) da mucosa vaginal, com percentagens de 50 a 100% (Suárez et al., 2006; Martins et al., 2009; Oliveira et al., 2013; Manes et al., 2013) que destaca a eficácia desse antibiótico no tratamento da vaginite cuja etiologia é a bactéria GP. Por outro lado, a principal etiologia da vaginite bacteriana em pequenos ruminantes são as bactérias coliformes (Ababneh e Degefa, 2006; Martins et al., 2009; Oliveira et al., 2013). Em relação a isso, nos isolados de E. coli apenas a ciprofloxacina apresentou o menor percentual de resistência (60%). Nesse sentido, Oliveira et al., 2013 mostraram que a ciprofloxacina foi 100% eficaz no controle de isolados de E. coli de isolados vaginais de cabras. Da mesma forma que Martins et al., 2009 mostraram 100% de eficácia em bactérias coliformes de isolados vaginais de ovelhas. Isso pode demonstrar a velocidade com que E. coli pode desenvolver resistência à ciprofloxacina, por isso é muito importante conscientizar os produtores e os médicos veterinários sobre o uso responsável de antibióticos.

CONCLUSÃO

A MV aeróbia das cabras crioulas do município de Jaumave, Tamaulipas é composta principalmente por bactérias GP (população representada principalmente pelo gênero *Staphylococcus* spp) e em menor proporção por bactérias GN (*Escherichia coli*). O isolamento bacteriológico dos cotonetes vaginais representou 41,2% das amostras, indicando que outros tipos de bactérias (exigentes nutricionalmente) poderiam fazer parte da VM. O VM GP aeróbio encontrado mostrou-se altamente resistente a eritromicina, tetraciclina e vancomicina, enquanto os isolados de GN foram resistentes à maioria dos quimioterápicos avaliados, exceto criprofloxacina e nitrofurantoína (com perfil de resistência de 60% e 80% respectivamente). O alto percentual de resistência encontrado neste trabalho destaca a importância do uso responsável de antibióticos na produção extensiva de caprinos.

AGRADECIMENTOS

Para o projeto SAGARPA CONACYT 2017-02-291311 "Desenvolvimento e transferência de testes diagnósticos para lentivírus e microrganismos causadores de aborto: *Chlamydia* spp., *Brucella melitensis*, *Leptospira* spp. e *Coxiella burnetti*, em ovelhas e cabras ". Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica da Universidade Autônoma de Tamaulipas, Laboratório de Diagnóstico da FMVZ-UAT e corpo técnico-administrativo.

LITERATURA CITADA

ABABNEH MM, Degefa T. 2006. Bacteriological findings and hormonal profiles in the postpartum Balady goats. *Reproduction in Domestic Animals*. 41(1):12–16. http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00638.x

ALVA-PÉREZ J, López-Corona LE, Zapata-Campos CC, Vázquez-Villanueva J, Barrios-García HB. 2019. Condiciones productivas y zoosanitarias de la producción caprina en el altiplano de Tamaulipas, México. *Interciencia*. 44(3):152-158. https://www.redalyc.org/jatsRepo/339/33958848008/33958848008.pdf

BARROW GI, Feltham RKA. 2004. Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria. 3rd Edition. ISBN 9780521543286

BELKAID Y, Bouladoux N, Hand TW. 2013. Effector and memory T cell responses to commensal bacteria. *Trends in Immunology*. 34(6):299–306. http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2013.03.003

DENG L, Schilcher K, Burcham LR, Kwiecinski JM, Johnson PM, Head SR. 2019. Identification of key determinants of *Staphylococcus aureus* vaginal colonization. *Mbio.* 10 (06):e02321 http://dx.doi.org/10.1128/mBio.02321-19

GIANNATTASIO-FERRAZ S, Laguardia-Nascimento M, Gasparini MR, Leite LR, Araujo FMG, de Matos Salim AC, de Oliveira AP, Nicoli JR, de Oliveira GC, da Fonseca FG, Barbosa-Stancioli EF. 2019. A common vaginal microbiota composition among breeds of *Bos taurus indicus* (Gyr and Nellore). *Brazilian Journal of Microbiology*. 50(4):1115–1124. http://dx.doi.org/10.1007/s42770-019-00120-3

GYLES CL, Fairbrother JM. 2010. *Escherichia coli* En. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Pp. 207-308. ISBN 978-0-8138-1237-3

HENDERSON G, Cox F, Ganesh S, Jonker A, Young W, Global Rumen Census Collaborators, Janssen PH. 2015. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific Reports*. 5(October):14567. http://dx.doi.org/10.1038/srep14567

HOMBACH M, Böttger EC, Ross M. 2013. The critical influence of the intermediate category on interpretation errors in revised EUCAST and CLSI antimicrobial susceptibility testing guidelines. *Clinical Microbiology and Infection*. 19(2):E59-E71. https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(14)60256-1/fulltext

HUMPHRIES RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, Koeth L, Sei K, on behalf of the CLSI Methods Development and Standardization Working Group of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2018 CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. *Journal of Clinical Microbiology*. 56(4):e01934-17. https://jcm.asm.org/content/56/4/e01934-17.long

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2010. Compendio de información geográfica municipal 2010 Jaumave. http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/28/28017.pdf

LIU G, Yin J, Han B, Barkema HW, Shahid M, de Buck J, Cobo ER, Kastelic JP, Gao J. 2019. Adherent/invasive capacities of bovine-associated *Aerococcus viridans* contribute to pathogenesis of acute mastitis in a murine model. *Veterinary Microbiology*. 230(November 2018):202–211. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.02.016

MANES J, Fiorentino MA, Hozbor F, Paolicchi F, Alberio R, Ungerfeld R. 2013. Changes in the aerobic vaginal bacteria load and antimicrobial susceptibility after different oestrous synchronisation treatments in goats. *Animal Production Science*. 53(6):555–559. http://dx.doi.org/10.1071/AN12191

MANES J, Fiorentino MA, Martino SS, Ungerfeld R. 2018. Changes in the vaginal microbiota in ewes after insertion of intravaginal sponges at different stages of the oestrous cycle. *Livestock Science*. 208(November 2017):55–59. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.11.023

MARTINS G, Figueira L, Penna B, Brandão F, Varges R, Vasconcelos C, Lilenbaum W. 2009. Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progestin-impregnated intravaginal sponges. *Small Ruminant Research*. 81(2–3):182–184. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.12.003

MAURER FP, Courvalin P, Böttger EC, Hombach M. 2014. Integrating forecast probabilities in antibiograms: a way to guide antimicrobial prescriptions more reliably? *Journal of Clinical Microbiology*. 52(10):3674-3684. https://jcm.asm.org/content/52/10/3674.

MAYNARD CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. 2012. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. 489(7415):231–41. https://doi.org/10.1038/nature11551

MEEKINS JM, Apley MD, Lubbers B, Peddireddi L, Rankin AJ. 2017. Evaluation of conjunctival bacterial flora in a herd of goats in the Midwestern United States. *Veterinary Ophthalmology*. 20(1):40–45. https://doi.org/10.1111/vop.12348

MOGHADDAM, MJM, Mirbagheri AA, Salehi Z, Habibzade SM. 2015. Prevalence of class 1 integrons and extended spectrum beta lactamases among multi-drug resistant *Escherichia coli* isolates from north of Iran. *Iranian Biomedical Journal*. 19(4): 233-239. https://doi.org/10.7508/ibj.2015.04.007

MOORE R, Miyoshi A, Pacheco LGC, Seyffert N, Azevedo V. 2010. Corynebacterium and Arcanobacterium. En. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Pp. 133-147. ISBN 978-0-8138-1237-3.

OLIVEIRA JK, Martins G, Esteves LV, Penna B, Hamond C, Fonseca JF, Rodrigues AL, Brandão FZ, Lilenbaum W. 2013. Changes in the vaginal flora of goats following a short-term protocol of oestrus induction and synchronisation with intravaginal sponges as well as their antimicrobial sensitivity. *Small Ruminant Research*. 113(1):162–166. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.02.011

OTERO C, Saavedra L, Silva de Ruiz C, Wilde O, Holgado AR, Nader-Macías ME. 2000. Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows. *Letters in Applied Microbiology*. 31(3):251–254. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00809.x

PASCALE A, Marchesi N, Marelli C, Coppola A, Luzi L, Govoni S, Giustina A, Gazzaruso C. 2018. Microbiota and metabolic diseases. *Endocrine*. 61(3):357–371. https://doi.org/10.1007/s12020-018-1605-5

PENNA B, Libonati H, Director A, Sarzedas AC, Martins G, Brandão FZ, Fonseca J, Lilenbaum W. 2013. Progestin-impregnated intravaginal sponges for estrus induction and synchronization influences on goats vaginal flora and antimicrobial susceptibility. *Animal Reproduction Science*. 142(1–2):71–74.

https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.09.006

PINOS-RODRÍGUEZ JM, Gómez-Ruiz WJ, Aguirre-Rivera JR, García-López JC, Álvarez-Fuentes G. 2015. Profitability of goat production in the Mexico highlands. *Outlook on Agriculture*. 44(3):223–233. https://doi.org/10.5367/oa.2015.0214

QUEIROGA MC. 2017. Prevalence and aetiology of sheep mastitis in Alentejo region of Portugal. Small Ruminant Research. 153(June):123–130. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.06.003

SALINAS-GONZÁLEZ H, Valle Moysen ED, de Santiago Miramontes MA, Véliz Deras FG, Maldonado Jáquez JA, Vélez Monroy I, Torres Hernández D, Isidro Requejo LM, Figueroa Viramontes U. 2016. Análisis descriptivo de unidades caprinas en el suroeste de la región lagunera, Coahuila, México. *Interciencia*. 41(11):763-768. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33948191006

SARGISON ND, Howie F, Mearns R, Penny CD, Foster G. 2007. Shiga toxin-producing Escherichia coli as a perennial cause of abortion in a closed flock of Suffolk ewes. *Veterinary Record.* 160(25):875–876. https://doi.org/10.1136/vr.160.25.875

SHEA EK, Berent AC, Weisse CW. 2019. Vesicovaginal fistula in a dog with urinary incontinence. *Journal of the American Veterinary Medical Associaton*. 255(4):466–470. https://doi.org/10.2460/javma.255.4.466

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). SIACON (Sistema de Información Agrolimentaria de Consulta). 28 de junio de 2019. https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430

STEWARD KF, Robinson C, Holden MTG, Harris SR, Ros AF, Pérez GC, Baselga R, Waller AS. 2017. Diversity of Streptococcus equi subsp. zooepidemicus strains isolated from the Spanish sheep and goat population and the identification, function and prevalence of a novel arbutin utilisation system. *Veterinary Microbiology*. 207(May):231–238. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.06.020

SUÁREZ G, Zunino P, Carol H, Ungerfeld R. 2006. Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load after treatment with intravaginal sponges in anoestrous ewes. *Small Ruminant Research*. 63(1–2):93–43.

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448805000386

YERUHAM I, Elad D, Avidar Y, Goshen T. 2006. A herd level analysis of urinary tract infection in dairy cattle. *The Veterinary Journal*. 171(1):172–176. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.04.005