

## BACTÉRIAS ISOLADAS DE LEITE ORIUNDO DE VACAS COM MASTITE SUCLÍNICA

PATRICIA JACOB SANTOS<sup>1</sup>; CRISTINA HALLAL FREITAS<sup>2</sup>; JOSIARA MENDES REDU<sup>3</sup>; SILVIA LADEIRA<sup>4</sup>; HELENICE DE LIMA GONZALEZ<sup>5</sup>; PATRICIA DA SILVA NASCENTE<sup>6</sup>.

1 Programa de Pós Graduação de Bioquímica e Bioprospecção - UFPel  
pati-j@ibest.com.br

2 Programa de Pós Graduação de Bioquímica e Bioprospecção – UFPel  
crishallal@hotmail.com

3 Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinária – UFRGS  
josiara.mds@hotmail.com

4 Faculdade de Veterinária – UFPel  
s.ladeira@hotmail.com

5 Faculdade de Veterinária – UFPel  
h.gonzalez@terra.com.br

6 Programa de Pós Graduação de Bioquímica e Bioprospecção – UFPEL  
patsn@bol.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

O leite é considerado um alimento completo. Por ser rico em proteínas, vitaminas, gordura, carboidratos e sais minerais, assim, tornando-se uma fonte importante de nutrientes para o homem (MARTINS *et al.*, 2011). Paralelamente o leite e seus derivados são excelentes meios para o desenvolvimento de microrganismos desejáveis, e outros patogênicos e deteriorantes, havendo a necessidade de cuidados desde a sua produção, ou seja, ordenha, beneficiamento e estocagem (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

A mastite é caracterizada por um processo inflamatório da glândula mamária relacionado a agressões físicas, químicas, térmicas ou microbianas, sendo que 90% das mastites são causadas por bactérias (RAMALHO *et al.*; 2012).

Esta enfermidade pode ser classificada quanto à forma de apresentação clínica ou subclínica (PHILPOT; NICKERSON, 1991). A forma clínica caracteriza-se por apresentar sinais visíveis, enquanto a forma subclínica apresenta certo grau de dificuldade na identificação, pois não há alterações clínicas evidentes na glândula mamária que possam ser observadas macroscopicamente (MIRA *et al.*, 2013). Este tipo de mastite é mais frequente que a mastite clínica, sendo necessário o emprego de testes como CMT, pois ele avalia o aumento das células somáticas do leite (CCS) (MIRA *et al.*, 2013). A forma subclínica é normalmente a mais prevalente sendo responsável por aproximadamente 70% das perdas na produção, podendo reduzir a secreção de leite em até 45% (FONSECA; SANTOS, 2000).

Os microrganismos envolvidos na etiologia da mastite bovina podem ser classificados em patógenos “maiores” e “menores”. Na primeira categoria estão incluídos os agentes que provocam maior CCS, alterações significativas na

composição do leite e, conseqüentemente, grande impacto econômico, sendo os principais patógenos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Coliformes*, *Estreptococos*, *Enterococos*, *Pseudomonas sp.*, *Actinomyces pyogenes* e *Serratia sp.*. *Estafilococos* coagulase negativos e *Corynebacterium bovis* são considerados patógenos “menores” e promovem inflamação moderada com CCS menos elevada (HARMON, 1994; LAFFRANCHI, 2000).

Os resultados obtidos na investigação de agentes causadores de mastite são fundamentais para a compreensão dos problemas específicos dos rebanhos, para orientar medidas racionais de controle da mastite e sugerir alterações a respeito do manejo adotado, inclusive realizar antibiograma para indicar melhor medicação para tratamento (RADOSTITIS *et al.*, 1994; BRAMLEY *et al.*, 1996). O emprego dos testes diagnósticos indiretos acarreta em redução nos casos de mastite, oferecendo, conseqüentemente, um produto lácteo de melhor qualidade (MIRA *et al.*, 2013).

Assim, o objetivo deste estudo foi isolar agentes patogênicos causadores de mastite subclínica em 94 amostras de leite com resultado CMT positivos obtidos em propriedades rurais de Pelotas e Capão do Leão – RS - Brasil.

## 2. METODOLOGIA

Amostras de leite com resultados positivos no teste de CMT (*Card Mastitis Test*) foram coletadas em tubo de ensaio estéril, individuais para cada quarto mamário e enviados imediatamente após a coleta, para o Laboratório de Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária da UFPel. As coletas foram realizadas em diferentes propriedades leiteiras do município de Pelotas e Capão do Leão – RS – Brasil totalizando 94 amostras de leite com resultado de CMT+++.

No laboratório, as amostras já identificadas em seus respectivos tubos de ensaio foram cultivadas em meio ágar Sangue, sendo a leitura das placas realizada em 18 a 24 horas depois de mantidas em estufa à temperatura de 36°C em ambiente de aerobiose. As amostras que apresentaram desenvolvimento bacteriano foram submetidas a confecção de esfregaço corado por Gram e posteriormente aos testes bioquímicos apropriados como catalase, coagulase e assimilações de carboidratos para sua identificação.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras positivas (+++) no CMT representaram um total de 94 (100%) tetos, os quais foram processados e após semeadura e incubação, observou-se crescimento bacteriano em 62 (65,9%). Após a caracterização bioquímica identificou-se: 29 *Staphylococcus sp.* coagulase negativa, seis *Staphylococcus sp.* coagulase positiva, 16 *Corynebacterium sp.*, sete *Streptococcus spp.* e quatro *Streptococcus uberis*.

A identificação do agente etiológico é importante para a implementação de métodos de controle e prevenção e para o monitoramento do rebanho. A importância de se diagnosticar vacas com mastite subclínica e aparentemente sadias, pelo uso

do CMT, é descobrir quais animais podem ser transmissores de infecção pela linha de ordenha ou pela mão do ordenhador (BRAMLEY *et al.*, 1996; HARMON, 1994). Estes animais além de serem focos de contaminações, contribuem pela baixa qualidade do leite e menor volume total produzido, o que reflete em perdas econômicas à propriedade (MOEINI *et al.*, 2002).

As espécies isoladas neste trabalho pertenciam à classificação de patógenos maiores (53,2%) e menores (46,8%).

Quanto aos resultados negativos ao CMT, (FIGUEIREDO, 1995), são plenamente confiáveis e muito úteis nos trabalhos de campo. Semelhante aos resultados observados no presente estudo, outros autores não obtiveram 100% de isolamento bacteriano em amostras de leite CMT positivo. (COSTA *et al.*, 1986) relataram o crescimento bacteriano em 88,79%, (FILIPPSEN *et al.*, 1999), 50,03% foram positivas nos exames microbiológicos.

Em relação aos isolados bacterianos positivos, os resultados foram de acordo com estudos realizados (PERSON, 2012 e PINHEIRO SÁ, 2000), já que estes encontraram como principal isolado *Staphylococcus* coagulase negativo seguido do isolado *Corynebacterium* sp..

Além dos problemas em relação aos animais infectados, o estudo dos microrganismos do leite também revela o conhecimento sobre o seu índice de contaminação microbiana que pode ser usado no julgamento de sua qualidade intrínseca, bem como das condições sanitárias de sua produção e da saúde do rebanho. Considerando o potencial de se multiplicarem, as bactérias do leite podem causar alterações químicas, tais como a degradação de gorduras, de proteínas ou de carboidratos, podendo tornar o produto impróprio para o consumo e industrialização (COUSIN, 1982).

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nestes resultados, observa-se que a presença de bactérias em amostras positivas ao CMT pode representar mastite subclínica, sendo importante a realização do teste como prevenção da mastite clínica. As espécies bacterianas mais isoladas foram *Staphylococcus* coagulase negativo e *Corynebacterium* sp..

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAMLEY, A.J., CULLOR, J.S., ERSKINE, R.J., FOX, L.K., HARMON, R.J., HOGAN, J.S., NICKERSON, S.C., OLIVER, S.P., SMITH, K.L., SORDILLO, L.M., Current concept of Bovine Mastitis. **4th ed. Madison: National Mastitis Council.** 64p, 1996.
- COSTA, E.O., COUTINHO, S.D., TEIXEIRA, C.M.,. Etiologia bacteriana da mastite bovina no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Microbiológica**, v.17, n.2, p.107-112, 1986.
- FILIPPSEN, L.F. Prevalência da mastite bovina causada por *Prototheca zopfii* em rebanhos leiteiros, na região Norte do Paraná. **Revista Ciência Rural**, v.29, n.1, p. 87-89. 1999.
- FIGUEIREDO, J.B., Mamite bovina: visão panorâmica de uma doença complexa **In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal 11**, Anais ...: Belo Horizonte, 1995, p.176.

- FONSECA, L.F.L., SANTOS, M.V., **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial 175p. 2000. GUIMARÃES, F.F., LANGONI, H., Leite: Alimento imprescindível, mas com riscos para saúde pública. **Revista Veterinária e Zootecnia**. V.16, n.1, p.38-51. 2009.
- HARMON, R.J., Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v.77, p. 2103-2112, 1994.
- LAFFRANCHI, A.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C.; PRETTO-GIORDANO, L. G.; DIAS, J. A.; SALVADOR, R. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, v.31, n.6, p.1027-1032, 2001.
- PERSSON, Y., NYMAN, A.K., GRÖNLUND-ANDERSSON, U. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *PLoS One* 7(10). 2012.
- PHILPOT, W.N., NICKERSON, S.C. **Mastitis: Counter Attack**. A strategy to combat mastitis. Illinois: Badson Brothers Co. 1991. 150p.
- PINHEIRO DE SÁ, M.E., MOTA, R.A., SOUZA, M.I., OLIVEIRA, A.A.F. Etiologia da mastite subclínica em bovinos leiteiros do agreste meridional do Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v.7, n.2, p.100-1003. 2000.
- MARTINS, P.F., ANDRADE, H.V., Identificação de Resíduos de Antibióticos na Recepção de Leite Cru Pré-Beneficiado Como Implantação do Plano APPCC em Laticínios. **FAZU em Revista** v.8, p.108-114. 2011.
- MIRA, S.C., DELLA LIBERA, A.M.P., SOUZA, N.F., LIMA, S.M., BLAGITZ, G.M., Celularidade do leite no diagnóstico de infecções intramamárias em bovinos. **Revista Ciências Agrárias**, v.56, n.1, p.7-11. 2013.
- MOEINI, M.M., SANJABI, M.R., AHADI A.H. High bacteria count in milk and it's economic loss. In: **World Buiatrics Congress 22**. Hannover: Proceedings, Anais.: 2002. p.9-10.
- RADOSTITIS, O.M., LESLIE, K.E, FETROW, J., Mastitis control in dairy herd Health: Food animal production medicine. Philadelphia: **WB Saunders Company**, p.229-276. 1994.
- RAMALHO, C.A., SOARES, K.D.A., SILVA, D.F., BARROS, M.R.C., JUNIOR. J.W.P., OLIVEIRA, J.M.B., MOTA, R.A., MEDEIROS, E.S., Eficácia in vitro de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente a *Staphylococcus* spp. isolados em rebanhos leiteiros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n.12, p.1285- 1288. 2012.