

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS DE LEITE COLHIDO DE VACAS COM MASTITE CLÍNICA

CAMPOS, Ester Ferreira¹, **MARIN**, Gustavo Geovane², **LIMA**, Larissa Assis³; **ASSIS**, Lílian Nery de³; **SOARES**, Luanna Queiroz⁴; **PAULA**, Jaqueline Nascimento de⁵ **MOREIRA**, Cecília Nunes Moreira⁶; **BRAGA**, Carla Afonso da Silva Bitencourt⁷.

Palavras-chave: mastite, bovino.

1. INTRODUÇÃO

A mastite bovina é considerada a doença que acarreta os maiores prejuízos econômicos à produção leiteira, pela redução da quantidade e pelo comprometimento da qualidade do leite produzido, ou até pela perda total da capacidade secretora da glândula mamária (Fonseca & Santos, 2000).

A mastite é definida como uma reação inflamatória da glândula mamária e, de acordo com a causa, pode ser classificada como infecciosa, traumática ou tóxica. As infecções da glândula mamária provocam redução da produção e da mudança da composição do leite que variam de acordo com a intensidade e duração das infecções. A mastite pode se manifestar na forma clínica ou subclínica (Bramley et al, 1996). A mastite clínica apresenta sinais evidentes, tais como: edema, aumento de temperatura, endurecimento, dor na glândula mamária, grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite (Fonseca & Santos, 2000). Na forma subclínica, ao contrário da forma clínica não ocorre mudanças visíveis na aparência do leite ou do úbere, embora ocorram alterações na composição do leite e deste possam ser isolados microrganismos patogênicos. (Bramley et al, 1996)

A etiologia da mastite é complexa e multivariada, o que torna necessária a identificação dos microrganismos que causam a infecção da glândula mamária, tanto para o controle e prevenção, quanto para o monitoramento de rebanhos (Schocken-Iturrino et al, 1996). Entre os agentes etiológicos isolados com maior frequência, no caso de mastite, destacam-se os estreptococos e os estafilococos, principalmente o *Staphylococcus aureus*. (Faria et al, 1996; Nicolau et al, 1996). O *Staphylococcus aureus* é o principal responsável pelas mastites contagiosas do rebanho leiteiro (Eberhart et al, 1987). Os patógenos ambientais são coliformes (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp e *Enterobacter aerogenes*), estreptococos (*Streptococcus uberis*, *streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus bovis*) e enterococos (*Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*). (Hogan & Smith, 1987).

O objetivo deste trabalho foi isolar e identificar microrganismos causadores de mastite clínica bovina em propriedades rurais do entorno de Jataí-GO.

2. METODOLOGIA

A colheita do material utilizado para análise microbiológica foi realizada antes da ordenha, em diversas propriedades rurais localizadas no entorno de Jataí-Goiás, nas quais foram observados manejos diferentes e conseqüentemente causas diferentes, justificando a presença da mastite na propriedade.

Um total de 50 amostras de leite de fêmeas bovinas que apresentavam quadro clínico de mastite foram devidamente colhidas e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Campus Avançado de Jataí/UFG.

Para a colheita do material, os tetos foram lavados com água corrente e secados com papel toalha, tendo o cuidado de utilizar um papel para cada teto; Em seguida, fez-se a desinfecção do orifício do teto com algodão embebido em álcool 70%. Após, aproximadamente, um minuto e com as mão limpas e secas

desprezaram-se os três primeiros jatos de leite de cada teto, tendo sido recolhidos, aproximadamente, 5mL de amostra em tubo de ensaio com tampa de rosca, devidamente esterilizado. Em seguida o material foi mantido refrigerado até o processamento.

No laboratório, as amostras foram diluídas (10^{-1} a 10^{-7}) em água peptonada, porém somente as cinco últimas diluições (10^{-3} a 10^{-7}) foram plaqueadas, simultaneamente, em Ágar Sangue, Ágar MacConkey e Ágar Sabouraud. Os dois primeiros meios de cultivo foram incubados por 24 horas a 37 °C, e o terceiro meio foi lacrado e incubado em temperatura ambiente por até sete dias. Após este período, as colônias isoladas foram avaliadas de acordo com suas características morfológicas e morfocoloriais.

Após esta caracterização foram avaliados testes bioquímicos, segundo Koneman et al (2001) para a classificação das amostras quanto aos gêneros e espécies.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da avaliação clínica, foi observado que os animais com mastite clínica apresentaram edema, aumento de temperatura e endurecimento do úbere, dor na glândula mamária, presença de grumos no leite e em alguns casos presença de sangue, o que foi igualmente descrito por Fonseca & Santos (2000). Tais sintomas ocorrem devido ao grave processo inflamatório que se instala nos processos infecciosos em decorrência de toxinas liberadas pelas bactérias e de substâncias leucocitárias secretadas nestes casos. O resultado normalmente é uma queda drástica na produção de leite (Bramley et al., 1996) e muitas vezes, perda da função da glândula mamária.

A mastite acomete, principalmente, vaca de grande produtividade de leite, cujo desenvolvimento desses microrganismos dá-se principalmente a partir do represamento de leite nos tetos ou ainda pela precariedade do manejo presente na propriedade.

Foram isoladas 101 amostras bacterianas, sendo 54,45% (55) de *Staphylococcus aureus*; 27,72% (28) de *Corynebacterium* spp; 5,94% (6) de *Streptococcus* spp; 4,95% (5) de *Escherichia coli*; 3,96% (4) de *Klebsiella* spp, 1,98% (2) de *Nocardia* spp e 0,99% (1) de *Kingella* spp. Hogan e Smith (1987) relataram a ocorrência de vários destes agentes em mastite clínica. Além de amostras bacterianas, foram isoladas leveduras classificadas como *Malassezia pachidermatis* e *Cândida* spp. Dentre os achados, pode-se observar a grande prevalência de *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium* spp. em animais com mastite clínica. O primeiro agente se destaca, segundo Eberhart et al. (1987), Faria et al. (1996) e Nicolau et al. (1996), como o principal responsável pela ocorrência de mastite clínica no rebanho leiteiro.

Acredita-se que a ocorrência de mastite no rebanho leiteiro tenha como principal fator o manejo da ordenha destes animais, que segundo observado nas visitas às propriedades, modifica grandemente, desde a lavagem dos tetos, mãos do ordenhador, cuidados com a ordenha mecânica, até higiene com a sala de ordenha. Dependendo do tipo de manejo, foi observada maior ou menor prevalência de mastite clínica, cuja etiologia é variada, segundo Schocken-Iturrino et al. (1996).

4. CONCLUSÃO

A mastite sempre foi a responsável pela grande perda de produtividade e qualidade do leite, o que gera inúmeros prejuízos ao produtor.

O manejo correto da ordenha e a higiene do indivíduo que lida diretamente com os animais é fundamental para se conseguir sucesso no controle desta enfermidade.

A identificação microbiológica dos agentes causadores de mastite clínica é sempre importante, pois é fundamental conhecer o agente para que o tratamento seja adequado, visto que muitas vezes observa-se a associação de vários microrganismos, bactérias e fungos, podendo o tratamento não ter êxito se os diferentes agentes não forem tratados concomitantemente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAMLEY A. J. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. National Mastitis Council, Madison, 1996, p.1-3.

EBERHART, R.J. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. In: Natl. Mastitis Counc. 3. ed. Arlington: VA, 1987.

FARIA, J.E. et al. Infecção estafilocócica em vacas no final da lactação e no início da seguinte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte: v. 48, n. 5, p.533-541, 1996.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.A. **Practical look at environmental mastitis**. In: COMPENDIUM ON CONTINUING EDUCATION FOR THE PRACTICING IN VETERINARY, 1987, *Proceedings...* p.341-346.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN Jr., W.C. **Diagnóstico microbiológico. Texto e atlas colorido**. 5.ed. São Paulo: MEDSI, 2001, 1855p.

NICOLAU, E.S. et al. Influência da mastite subclínica estafilocócica sobre as características físico químicas e celulares do leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília: v. 16, n. 1, p.35-38, 1996.

SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. A; et al. Sensibilidade dos *Staphylococcus* coagulase positiva, isolados em casos de mastite subclínica bovina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. **ARS Veterinária**, Jabotical: v. 12, n. 1, p.57-63, 1996.

¹ Bolsista PIBIC 2004/2005 de iniciação científica. Laboratório de Microbiologia/Campus Avançado de Jataí/UFG, estfcvet@bol.com.br

² Bolsista PIBIC 2004/2005 de iniciação científica. Laboratório de Microbiologia/Campus Avançado de Jataí/UFG, gustavogmarin@zipmail.com.br

³ Biólogas estagiárias do Laboratório de Microbiologia /Campus Avançado de Jataí/UFG

⁴ Bolsista PIBIC 2005/2006 de iniciação científica. Laboratório de Microbiologia /Campus Avançado de Jataí/UFG luannagsoares@bol.com.br

⁵ Alunas de graduação do curso de Ciências Biológicas do Laboratório de Microbiologia/Campus Avançado de Jataí/UFG

⁶ Professora do curso de Medicina Veterinária do Campus Avançado de Jataí/UFG

⁷ Orientadora. Curso de Medicina Veterinária/Laboratório de Microbiologia/Campus Avançado de Jataí/UFG, carlaafonso@bol.com.br.