

Veterinária e Zootecnia

**Suplemento: Anais do V Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite do Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite – CBQL
10 a 12 de Junho de 2013.**

Vet e Zootec.

2013 junho; 20(2 Supl 1): 001-460

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102 -5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

Botucatu - SP – Brasil

040 - OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* EM REBANHO LEITEIRO DO ESTADO DE MINAS GERAIS¹

Staphylococcus aureus OCCURRENCE IN DAIRY HERD LOCATED IN MINAS GERAIS STATE

Viviane de Souza²
Natacha Deboni Cereser³
Poliana de Castro Melo⁴
Sandra de Oliveira Conde⁵
Maria Izabel Merino de Medeiros⁶
Antonio Nader Filho⁷

Introdução: A mastite bovina é a principal doença do gado leiteiro em todo o mundo, devido a sua elevada ocorrência, aos prejuízos econômicos que acarreta aos produtores e à perda da qualidade do leite. Dentre os agentes da mastite, o *Staphylococcus aureus* é o mais frequentemente isolado. Sabe-se que o conhecimento do perfil molecular deste microorganismo é de fundamental importância para uma melhor compreensão dos estudos epidemiológicos de dispersão deste patógeno nas propriedades rurais, assim como para o estabelecimento de protocolos de controle. Diante do exposto, idealizou-se o presente trabalho com a finalidade de identificar e confirmar genotipicamente as estirpes de *S. aureus* isoladas nos casos de mastite e dos principais pontos críticos de contaminação durante o processo de obtenção do leite, por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), a partir da amplificação de fragmento de DNA cromossomal específico do *S. aureus*.

Material e Métodos: Durante o mês de Março de 2009, um total de 36 vacas pertencentes a uma propriedade rural situada no Município de Sacramento-MG, foram submetidas à prova do *California Mastitis Test* (CMT). Foram colhidas de acordo com os procedimentos recomendados pelo *National Mastitis Council*, em tubos de ensaio esterilizados, amostras de leite dos quartos reagentes ao CMT, e do leite de conjunto contido no tanque de expansão da propriedade. Paralelamente, foram colhidas, amostras dos óstios papilares, dos latões, coadores, dos insufladores da ordenhadeira mecânica, da superfície do tanque de expansão individual e da água utilizada para higienização dos equipamentos, totalizando 37 amostras. As amostras foram transportadas em caixa de material isotérmico contendo gelo e levadas ao Laboratório de Análises Microbiológicas de Alimentos de Origem Animal e Água, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV, Unesp – Câmpus de Jaboticabal – SP, para isolamento, identificação fenotípica e genotípica. Todas as amostras obtidas foram semeadas em Ágar Baird-Parker e incubadas a 37 °C por 48 horas. Para a identificação bioquímica as colônias que revelassem a presença de cocos G+ em

¹ Auxílio Pesquisa FAPESP (2008/53581-2)

² Pesquisadora, EMBRAPA Caprinos e Ovinos – Sobral-CE. Estrada Sobral-Groaíras, Km 4. Caixa Postal: 145. CEP: 62010-970. Sobral-CE. Tel. (88) 3112-7573. Email: viviane.souza@embrapa.br

³ Professora, Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA, Universidade Federal de Pelotas-RS; Email: natachacereser@yahoo.com.br

⁴ Pós-doutoranda em Morfologia, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia-MG; Email: policame@yahoo.com.br

⁵ Técnica de laboratório da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - FMRP – USP; Ribeirão Preto-SP. Email: conde_so@yahoo.com.br

⁶ Pesquisadora Científica Nível III, Instituto de Tecnologia de Alimentos ITAL - Campinas – SP; Email: belvt@uol.com.br

⁷ Professor Titular Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP; Email: nader@fcav.unesp.br

esfregaços corados pelo método de Gram foram submetidas às provas de catalase e coagulase lenta com plasma de coelho. Em seguida, as estirpes foram, então, submetidas à prova para verificação da produção de acetoina e utilização ou não da maltose e da trealose. Para a extração do DNA bacteriano foi utilizado o Kit Invitek - Uniscience®, que contém o protocolo de extração de DNA para bactérias Gram positivas. Posteriormente, a confirmação molecular dos isolados de *S. aureus*, para a identificação da espécie, foi feita a partir da amplificação de fragmentos de DNA cromossômico específico do *S. aureus* de acordo com o protocolo descrito por Martineau et al. (1).

Resultados e Discussão: Das 37 amostras colhidas nos diversos sítios, foram isoladas 26 (70,3%) estirpes caracterizadas bioquimicamente como pertencentes à espécie de *S. aureus*. Entretanto, somente em 13 (50,0%) amostras foi possível a amplificação de fragmento de DNA cromossômico específico da espécie de *S. aureus*. Os pontos de colheita de amostras que apresentaram maior frequência de isolamento de estirpes de *S. aureus* foram o leite das vacas reagentes ao CMT (38,5%), os óstios papilares (23,1%) e os insufladores das ordenhadeiras mecânicas (23,1%). Ferreira (2) ao estudar 245 estirpes de *S. aureus* isoladas dos casos de mastite e de outros sítios de localização em uma propriedade rural localizada no estado de São Paulo, observou que os isolamentos foram mais frequentes entre as amostras de leite, seguidas pelas amostras dos óstios papilares e dos insufladores. Do mesmo modo, Oliveira (3), em estudo realizado em cinco propriedades leiteiras da região noroeste do estado de São Paulo, observou que o leite foi o ponto de colheita que apresentou maior ocorrência de estirpes de *S. aureus*. Considerando-se que os *S. aureus* são patógenos contagiosos, cujos principais sítios de localização nos animais são representados pelo leite dos quartos infectados e superfícies da pele do úbere e do teto, e que a transmissão destes micro-organismos ocorre usualmente entre as vacas durante a ordenha, os isolamentos observados no presente estudo podem estar diretamente associados à ausência da execução dos procedimentos de antissepsia dos tetos antes e após a ordenha.

Conclusões: Os resultados obtidos sugerem maiores cuidados na identificação dos principais pontos de transmissão das estirpes de *S. aureus* no fluxograma de produção leiteira, e a participação dos bovinos leiteiros como importantes reservatórios destes micro-organismos. Tais achados corroboram, ainda, com a imperiosa necessidade da adoção de algumas medidas voltadas para o estabelecimento de um programa de controle da mastite nessa propriedade, como a utilização do *California Mastitis Test* (CMT) ou Contagem de Células Somáticas (CCS) para a detecção dos casos de mastite subclínica, e a realização da antissepsia dos tetos, por meio da utilização do pré e do pós-dipping.

Agradecimentos: Ao CNPq e à FAPESP.

Referências:

1. MARTINEAU, F. et al. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 3, p. 618-623, 1998.
2. FERREIRA, L.M. **Epidemiologia molecular aplicada ao monitoramento de estirpes de *Staphylococcus aureus* envolvidas em casos de mastite bovina**. 2008. 88p. Tese de Doutorado – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.
3. OLIVEIRA, R. P. **Epidemiologia Molecular da Mastite Bovina causada por *Staphylococcus aureus***. 2001. 44p. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2001.