

ISOLAMENTO DE MICRO-ORGANISMOS CAUSADORES DE MASTITE BOVINA E EFEITO DA VACINAÇÃO AUTÓGENA NA CCS DO LEITE CRU REFRIGERADO¹

Hugo Tavares de Castro², Adriano França da Cunha³, Vitório Augusto Fabris Xavier Cardoso², Daniel Lúcio dos Santos⁴, Kamila Soares Coelho², Talita Oliveira Maciel Fontes²

Resumo: *A mastite é uma das principais enfermidades que acometem os rebanhos bovinos. Portanto, o objetivo foi isolar micro-organismos causadores de mastite e avaliar a eficiência de vacina autógena contra mastite bovina na CCS do leite cru refrigerado. Três rebanhos (A, B e C) de Queluzito (MG) com 35, 54 e 120 vacas em lactação foram submetidos ao teste CMT. Os animais positivos foram submetidos à coleta de leite para isolamento de micro-organismos e posterior síntese de bacterina. Todos os animais foram vacinados e a CCS do leite do tanque foi obtida por absorção de luz infravermelha cinco meses antes e depois da vacinação. Foram isolados tanto micro-organismos contagiosos (*Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*) como de micro-organismos ambientais (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Escherichia coli* e *Arcanobacterium pyogenes*). O leite da propriedade A apresentou redução média de 158.000 céls/mL, propriedade B de 135.000 céls/mL e propriedade C de 116.000 céls/mL. Houve redução média de 136.000 céls/mL, o que equivale a 26,5%. Portanto, a vacina autógena pode ser uma ferramenta importante na diminuição da CCS do leite do tanque.*

Palavras-chave: *Bacterina, mamite, rebanho, tanque, vacina*

¹ Parte do Trabalho de Conclusão de Curso do primeiro autor.

² Graduando em Medicina Veterinária – FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: hugo.tavarescastro@yahoo.com.br; vitorioaugustofxc@yahoo.com.br; kamilas.coelho@hotmail.com; talitaomf95@hotmail.com

³ Professor em Medicina Veterinária – FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: adrianofcunha@hotmail.com.br

⁴ Médico Veterinário – Microvet Microbiologia Veterinária. email: dluciosantos@gmail.com

Abstract: *Mastitis is one of the main diseases that affect bovine cattle. Therefore, the aim was isolate mastitis microorganisms and to evaluate autogenous vaccine effectiveness against bovine mastitis in CCS of refrigerated raw milk. Three cattle (A, B and C) of Queluzito (MG) with 35, 54 and 120 lactating cows were subjected to the CMT test. It's collecting milk of positive animals for isolating microorganisms and subsequent synthesis of bacterin. All animals were vaccinated and CCS of tank milk was obtained by absorbing infrared light five months before and after of vaccination. Both infectious micro-organisms (*Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus*) and environmental micro-organisms (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Escherichia coli* and *Arcanobacterium pyogenes*) were isolate. Milk of property A showed an average reduction of 158.000 cells/mL, property B of 135.000 cells/ml and property C of 116.000 cells/mL. There was an average reduction of 136.000 cells/ml, which is equivalent to 26.5%. Therefore, the autogenous vaccine may be an important tool in reducing the CCS of tank milk.*

Keywords: *Bacterin, cattle, mastites, tank, vaccine*

Introdução

Mastite é a inflamação da glândula mamária de bovinos que resulta em perdas na produção e modificações físico-químicas do leite, como aumento da contagem de células somáticas (CCS). Estas são células de defesa imune e descamação do epitélio mamário que indicam a prevalência de mastite no rebanho quando determinadas no leite do tanque de armazenamento da propriedade. Portanto, a CCS do leite do tanque é uma ferramenta mais simples e fácil para monitorar a doença no rebanho (BRITO et al., 1999).

Apesar dos avanços tecnológicos quanto à seu controle, a prevalência de mastite na bovinocultura leiteira é alta e as respostas à terapias ainda são limitadas e onerosas. A utilização indiscriminada de antimicrobianos para tratamento de animais com mastite causa resistência dos micro-organismos à tais drogas e compromete a saúde humana devido aos seus resíduos que

surgem no leite (SANTOS & FONSECA, 2007).

O uso de vacinas autógenas é uma opção aos tratamentos convencionais, quando estes não apresentam sucesso no controle de doenças endêmicas e ocasionam perdas significativas por morbidade e mortalidade. As vacinas autógenas são desenvolvidas a partir de agentes isolados dos próprios hospedeiros e incorporam na população susceptível alguma fração antigênica para melhorar a proteção contra o agente atuante (CARVALHO, 2007). Portanto, o objetivo do trabalho foi isolar micro-organismos causadores de mastite e avaliar os efeitos de vacina autógena contra mastite bovina na CCS do leite cru refrigerado.

Material e Métodos

Vacas em lactação de três propriedades (A, B e C) situadas no município de Queluzito (MG) foram utilizadas. As três propriedades continham 35, 54 e 120 vacas em lactação da raça Holandês e mestiças (3/4 a 15/16 Holandês x Gir), em regime de semi confinamento. Os animais recebiam silagem de milho e concentrado durante o dia e permaneciam em pastagens de *Brachiaria decumbens* pela noite. Os animais eram ordenhados duas vezes ao dia, produzindo 20 litros de leite/vaca/dia em média.

Por meio do histórico das propriedades, foram obtidos dados sobre a CCS do leite estocado no tanque de expansão, já que estas indicam a situação de mastite no rebanho. Os valores de CCS mensais do leite obtido de cinco meses anteriores e posteriores ao experimento foram obtidos por meio dos boletins de leite dos laticínios que captam o leite das propriedades. A CCS foi determinada por absorção do infravermelho, utilizando o equipamento Bentley Combi System 2300[®]. Os resultados foram expressos em céls./mL.

Após realização do teste California Mastitis Test (CMT) para detecção de mastite subclínica de cada quarto mamário, amostras de leite foram coletadas para isolamento e identificação bioquímica de micro-organismos causadores de mastite, de acordo com a metodologia estabelecida por National

Mastitis Council (OLIVER et al., 2004).

A produção de bacterina para síntese da vacina foi realizada de acordo com a metodologia de Nordhaug et al. (1994) e Leigh (1997). Em seguida, as vacinas foram transportadas à temperatura abaixo de 7°C para que todos os animais lactantes das três propriedades fossem vacinados. Para isto, os animais foram contidos em troncos e receberam duas doses da vacina com intervalo de 21 dias. Cada animal recebeu 2mL da mesma, sendo a aplicação feita por via intramuscular, na região posterior da coxa.

Para avaliação da eficiência da vacina, as CCS dos leites dos rebanhos foram avaliadas mensalmente durante cinco meses após a vacinação e comparadas de forma descritiva com as CCS obtidas cinco meses antes da vacinação. A pesquisa foi aprovada pelo Núcleo de Pesquisa e Extensão (NUPEX) da Faculdade União do Ensino Superior de Viçosa (UNIVIÇOSA) sob número de protocolo 092/2015-I.

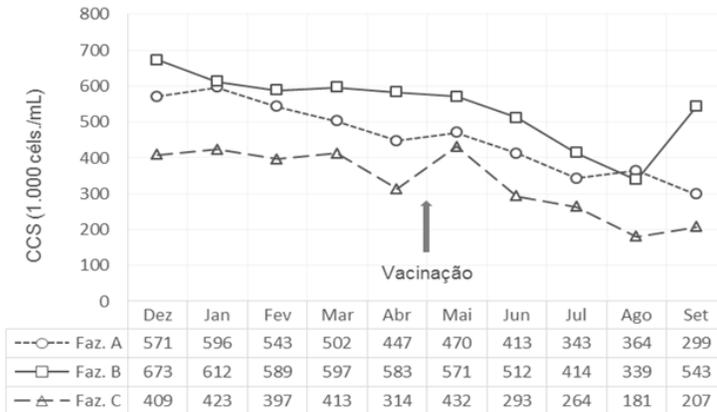
Resultados e Discussão

Foram isolados tanto micro-organismos contagiosos (*Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*) como de micro-organismos ambientais (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Escherichia coli* e *Arcanobacterium pyogenes*) (SANTOS & FONSECA, 2007).

As infecções contagiosas causadas por *S. aureus* e *S. agalactiae* normalmente apresentam-se de forma subclínica levando ao aumento da CCS do rebanho. Uma vez infectado pelo agente, o quarto do animal passa a ser reservatório do agente. *S. dysgalactiae* é considerado um micro-organismo ambiental, assim como *E. coli*, micro-organismo primariamente causador de mastite clínica. *S. uberis* é um dos principais agentes causadores de mastite ambiental, mas pode ocorrer transmissão entre animais. *A. pyogenes* e *S. bovis* são considerados agentes secundários na epidemiologia da mastite (BRITO et al., 1999; SANTOS & FONSECA, 2007).

Os resultados da CCS dos leite coletados cinco meses antes e depois da

vacinação estão demonstrados na Figura 1. Observou-se que nas propriedades A e C, houve aumento numérico da CCS no primeiro mês após a vacinação. Em



seguida, a CCS tendeu a diminuir nos próximos quatro meses de experimento.

Figura 1. Contagem de células somáticas do leite de três rebanhos bovinos antes e após vacinação autógena

O estímulo antigênico ativa macrófagos e neutrófilos migratórios do sangue para o leite, o que causa o aumento inicial da CCS, já que tais células de defesa são consideradas na CCS. Com o passar do tempo e eliminação do estímulo, a resposta imune de memória se estabelece e o número de células somáticas se normaliza ou diminui, caso não haja novas infecções (SPELLBERG & DAUM, 2012), o que foi observado no presente estudo.

GIRAUDO *et al.* (1998) desenvolveram uma vacina com *S. aureus* inativados e encapsulados, em adjuvante de hidróxido de alumínio. Entretanto, não houve efeitos da vacinação na CCS do leite de animais vacinados quando comparada com a CCS do leite de animais controle.

Comparando a CCS antes e após a vacinação, o leite da propriedade A apresentou redução média de 158.000 céls/mL, propriedade B de 135.000 céls/mL e propriedade C de 116.000 céls/mL. Considerando as três propriedades, houve redução média de 136.000 céls/mL, o que equivale a 26,5%. A vacina

autógena pode ser considerada uma ferramenta importante na diminuição da CCS do leite do tanque e, provavelmente, na prevalência de mastite, já que o número de células somáticas indica a situação endêmica de mastite no rebanho.

Conclusões

S. agalactiae, *S. aureus*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae*, *S. bovis*, *E. coli* e *A. pyogenes* são micro-organismos causadores de mastite em rebanhos bovinos. A vacinação autógena pode ser uma importante ferramenta no controle da CCS do leite cru refrigerado.

Agradecimentos

Agradecemos à Microvet Microbiologia Veterinária Especial pelo apoio durante a execução e apoio financeiro do experimento.

Referências Bibliográficas

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F; RIBEIRO, M.T.; VEIGA, V.M.O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.51, n.2, p.129-135, 1999.

CARVALHO, S.D.F.S.M. Enquadramento regulamentar das vacinas autógenas de uso veterinário e caracterização da sua utilização em Portugal. 2007. 38f. Dissertação (Mestrado em Regulação e Avaliação de Medicamentos e Produtos de Saúde) - Universidade de Lisboa, Lisboa.

GIRAUDO, J. A.; CALZOLARI, H. RAMPONE, A.; GIRAUDO, A.T.; BOGNI, C.; LARRIESTRA, A.; NAGEL, R. Field trials of vaccine against bovine mastitis. Journal of Dairy Science, v.80, p.845-853, 1998.

LEIGH, J.A. Progress in the development of vaccines against environmental streptococcal mastitis. In: SYMPOSIUM UDDER HEALTH MANAGEMENT FOR ENVIRONMENTAL STREPTOCOCCI, Proceedings..., 1997, p.59-74.

NORDHAUG, M.L.; NESSE, L.L.; NORCROSS, N.L.; GUDDING, R. A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 1. Clinical parameters. *Journal of Dairy Science*, v.77, p.1267-75, 1994.

OLIVER, S.P.; GONZÁLEZ, R.N.; HOGAN, J.S.; JAYARAO, B.M.; OWENS, W.E. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. Verona: National Mastitis Council. 2004.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Barueri: Ed. Manole. 2007.

SPELLBERG, B.; DAUM, R. Development of a vaccine against *Staphylococcus aureus*. *Seminars in Immunopathology*, v.34, p.335-348, 2012.