

Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu/SP. Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n., Unesp Campus de Botucatu, CEP: 18618-681, Botucatu/SP, Caixa Postal 560

3Residente em Saúde Coletiva UFPel, Campus Capão do Leão, Avenida Eliseu Maciel, s/n., CEP: 96900-010, Campus Capão do Leão/RS, Brasil

4Graduanda em Medicina Veterinária UFPel, Campus Capão do Leão, Avenida Eliseu Maciel, s/n., CEP: 96900-010, Capão do Leão/RS, Brasil

5Professor associado da disciplina de Doenças Infecciosas, Faculdade de Veterinária, UFPel, Campus Capão do Leão, Avenida Eliseu Maciel, s/n., CEP: 96900-010, Capão do Leão/RS, Brasil

O *Staphylococcus aureus*, principal microrganismo causador de mastite bovina, possui diversos fatores de patogenicidade, dentre eles a capacidade de produzir enzimas citolíticas como hemolisinas, que estão associadas a alterações patológicas nas infecções estafilocócicas. O presente trabalho avaliou a produção de hemolisinas por *S. aureus* isolados de mastite bovina. A partir de amostras de leite coletadas de quartos mamários com mastite, foram isoladas seis estirpes de *S. aureus* provenientes de enfermidade clínica e dez de enfermidade subclínica que foram avaliadas quanto à produção de hemolisinas. Os isolados foram semeados em meio de cultivo Ágar-sangue 5%, incubados e, após crescimento das colônias, estas foram suspensas em caldo BHI sob turbidez 01 da escala de Mc Farland. Foi coletado sangue de carneiro, desfibrinado, centrifugado e o sobrenadante descartado. Foram realizadas duas lavagens com tampão PBS até a ressuspensão das hemácias em PBS no volume inicial de sangue. Em placas com 96 cavidades, 50 µL de caldo BHI duplo com 5% de hemácias e 50 µL das suspensões bacterianas foram adicionados aos poços em quadruplicata. Após 48 horas de incubação, os sobrenadantes foram aspirados e transferidos a outras microplacas. A leitura efetuada em espectrofotômetro (492nm) avaliou a absorvância. Foram consideradas positivas as estirpes cujas médias ultrapassaram a média dos controles negativos (apenas BHI) acrescidos de dois desvios padrões. O teste t de Student foi adotado para comparação entre as médias. As estirpes hemolíticas rompem hemácias e causam o extravasamento de hemoglobina no meio, tornando o sobrenadante avermelhado. O controle negativo apresentou média de absorvância de $0,342 \pm 0,05$. Todas as estirpes isoladas dos casos de mastite clínica foram positivas ($0,843 \pm 0,235$). Nove estirpes de casos subclínicos tiveram média superior ao controle negativo $0,563 \pm 0,106$. Uma estirpe teve absorvância $0,272 \pm 0,07$; portanto, inferior ao controle negativo. Houve diferença entre a média de absorvância dos controles negativos e as médias de absorvância das estirpes positivas ($p < 0,001$) e entre as estirpes provenientes de mastite clínica e subclínica ($p < 0,01$), demonstrando que a produção de hemolisinas é um importante fator de patogenicidade de *S. aureus* relacionado com o grau de severidade da infecção.

Palavras-chave: enzima citolítica, leite bovino, fator de patogenicidade.

18 STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NEGATIVA E STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM MASTITE SUBCLÍNICA BOVINA NO NORTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

SILVA, L. M. V.1; CUNHA, G. S. P.2; ALBERICO, A. X. 3; OLIVEIRA, S. J. 3; SOUZA, C. N. 4; MORÃO, R. P. 5; GONÇALVES, S. F. 6; SILVA, F. E. G. 6*

1Bolsista IC PIBIC CNPq

2Bolsista IC PROBIC FAPEMIG

3Mestranda em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

4Técnica do Laboratório de Microbiologia Aplicada, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

5Doutorando em Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Belo Horizonte

6Graduandos em Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros *E-mail: flavioemanuel2515@hotmail.com

O gênero *Staphylococcus* sp. ocupa uma posição de destaque entre os agentes bacterianos que acometem a glândula mamária. Esse gênero é responsável por alterar a composição centesimal do leite, o número de células somáticas, bem como as qualidades microbiológica, física e química do leite. O *Staphylococcus* coagulase negativo são bactérias isoladas em leite bovino e consideradas como patógenos emergentes de alta frequência. A alta prevalência de *Staphylococcus aureus* no rebanho leiteiro é um desafio para a criação de programas de controle pela alta resistência aos antibióticos e alta disseminação infecciosa entre os tetos. O presente trabalho foi delineado para avaliar a frequência de *Staphylococcus* sp.

em glândulas mamárias bovinas com mastite subclínica em rebanhos mestiços leiteiros em seis municípios do norte do Estado de Minas Gerais, Brasil. Foram avaliadas propriedades nos municípios de Mathias Cardoso (n=1), São João da Lagoa (n=1), Janaúba (n=3), Icarai de Minas (n=3), Francisco Sá (n=1) e Porteirinha (n=1). A ocorrência de mastite subclínica foi investigada, antes da ordenha, com o emprego do *California Mastitis Test* (CMT), em todas as matrizes em lactação, a partir do 15º dia pós-parto. As amostras de leite foram colhidas dos tetos positivos ao teste de CMT e a identificação de *Staphylococcus* sp. foi estabelecida por metodologia convencional. Dos 500 tetos analisados 33, 4% (167/500) apresentaram cultivos positivos para *Staphylococcus* sp. Das 167 estirpes isoladas, 55,1% (92) foram identificadas como *Staphylococcus* sp. coagulase negativa e 44,9 % (75) como *Staphylococcus aureus*. A frequência de estirpes isoladas não diferiu entre as propriedades estudadas ($p > 0,05$). No entanto, a frequência de estirpes identificadas como *Staphylococcus aureus* e de agrupamentos *Staphylococcus* sp. coagulase negativa foi distinta ($p < 0,05$) entre as propriedades analisadas, sendo que duas propriedades apresentaram 100% de isolados de *Staphylococcus aureus*. A conclusão obtida foi que, na região estudada, as perdas na produtividade dos rebanhos com alto custo para tratamento de animais positivos e a perda na produção em decorrência da contaminação das glândulas mamárias contaminadas por *Staphylococcus* sp. são expressivas, sendo necessária a implantação de programas efetivos de controle da infecção.

Palavras-chave: *Staphylococcus* sp., rebanhos mestiços, qualidade do leite, mastite contagiosa.

Agradecimentos: FAPEMIG, CNPq, CAPES, UFMG/PRPq, UFMG/PBEXT.

19 MULTIRRESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS DE REBANHOS MESTIÇOS LEITEIROS DO NORTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

SILVA, L. M. V. 1; ALBERICO, A. X. 2; SOUZA, C. N. 3; GUEDES, L. L. M. 4; PENA, A. C. S. 4; MAIA, P. H. B. 4; LIMA, J. W. G. 4*; TEIXEIRA, M. G. 5

1 Bolsista IC PIBIC CNPq

2Mestranda em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

3Técnica do Laboratório em Microbiologia, Universidade de Minas Gerais, Campus Montes Claros

4Graduandos em Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros. *E-mail: josewilker.gomes.lima@gmail.com

5Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

A mastite bovina é uma inflamação da glândula mamária e sua disseminação depende da interação entre o homem, o animal, os ambientes e os agentes patogênicos que desencadeiam o processo inflamatório. A doença causa grandes perdas econômicas nos setores da indústria de laticínios. Um dos microrganismos identificados em maior frequência no leite é o *S. aureus*, patógeno causador de mastite crônica e produtor de toxinas estáveis ao calor. O tratamento para as infecções intramamárias é efetuado com a utilização de antimicrobianos, mas, na maioria das vezes, esses produtos são empregados de forma errônea e abusiva, o que contribui para o aumento da resistência de microrganismos patogênicos e cria dificuldades para o tratamento das infecções. O presente trabalho foi delineado para avaliar a multirresistência antimicrobiana de estirpes de *S. aureus* isoladas de glândulas mamárias bovinas com mastite subclínica em rebanhos mestiços leiteiros de dez propriedades localizadas nas regiões do norte do Estado de Minas Gerais, Brasil, totalizando 500 tetos. As amostras foram analisadas por isolamento e identificação microbiana efetuados com a metodologia convencional. O perfil fenotípico de sensibilidade a antimicrobianos das estirpes isoladas foi determinado pela técnica de difusão em disco. O índice de multirresistência das estirpes isoladas foi determinado com o índice MAR. Em 15% (75/500) das amostras examinadas foi identificado o *S. aureus*, sendo que em duas das propriedades o microrganismo foi identificado em 100% das amostras examinadas. Os resultados do antibiograma revelaram que as estirpes de *S. aureus* isoladas foram resistentes à gentamicina (2,15%), amicacina (2,2%), amoxicilina (62%), cefoxitina (6%), oxacilina (5%), ciprofloxacino (1%), ampicilina 69% e cefalexina (92%). As estirpes isoladas apresentaram maior resistência para as bases penicilina, amoxicilina e ampicilina, e 5% das estirpes isoladas foram classificadas como *S. aureus* metilicina resistente (MRSA). O índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) variou de 0 a 0,6, com média de 0,23 para as propriedades analisadas. Em 100% das propriedades foram isoladas estirpes MAR. A conclusão obtida foi que, nos rebanhos mestiços

leiteiros na região norte do Estado de Minas Gerais, há uma alta frequência de ocorrência de estirpes de *S. aureus* multirresistentes, achado preocupante quanto ao risco de veiculação de microrganismos e resíduos de antibióticos para os seres humanos, além do comprometimento da sustentabilidade da produção em virtude da mastite crônica contagiosa nos rebanhos.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, meticilina resistente, qualidade do leite, mastite bovina, resistência antimicrobiana.

Agradecimentos: FAPEMIG, CNPq, CAPES, UFMG/PRPq, UFMG/PBEXT.

20 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DO LEITE CRU REFRIGERADO PRODUZIDO EM UMA FAZENDA NA REGIÃO SUDESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

SILVA, M. C. B.*; MARQUES, J. C. S.; LEÃO, I. M. R.; SANTOS, F. A. R.; ROQUETTE, J. J.; LIMA, A. M. C.

Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), CEP: 38400-902, Uberlândia/MG, Brasil. E-mail: mah_carlah@hotmail.com

No ano de 2015, a região sudoeste do Estado do Paraná, Brasil, produziu 1,164 bilhão de litros de leite, representando 53% da produção total do estado. O aperfeiçoamento e a ampliação dessa produção depende da melhoria das condições higiênico-sanitárias dos rebanhos, os quais devem ser monitorados por indicadores de qualidade do leite representados pela contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), cujos valores permitidos são estabelecidos pela Instrução Normativa n. 62 (IN n. 62), de 29 de dezembro de 2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. O presente trabalho analisou os resultados de CCS e CBT do leite cru refrigerado, produzido na cidade de Mariópolis/PR, no período compreendido entre os meses de janeiro a dezembro de 2015. A propriedade trabalhada explorada por mão de obra familiar contava com aproximadamente 14 vacas em lactação, pouca mecanização e produção média de 10,331 litros de leite por ano. Os limites estabelecidos de CCS e CBT pela IN n. 62 em leite cru refrigerado são respectivamente 500.000 CS/ml e 300.000 UFC/ml. A propriedade acompanhada apresentou a média aritmética anual de 423.000 CS/mL e 219.000 UFC/ml, com coeficiente de variação de 35,44% de CCS e 44,41% de CBT, situando-se, portanto, dentro dos limites regulamentares.

Palavras-chave: agricultura familiar, qualidade de leite, Instrução Normativa n. 62

21 IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DE BIOFILME EM FAZENDAS PRODUTORAS DE LEITE

CHAGAS, L. G. S.; SANTOS, F. A. R.*; MARQUES, J. C. S.; SILVA, M. C. B.; LEÃO, I. M. R.; LIMA, A. M. C.

Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), CEP: 38400-902, Uberlândia/MG, Brasil. E-mail: mah_carlah@hotmail.com

De acordo com Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Estado de Minas Gerais é o maior produtor de leite do Brasil, e a pecuária leiteira assume expressiva importância econômica para o local. A mastite, inflamação da glândula mamária, é um dos principais problemas na produção de leite, causando prejuízos econômicos devido a gastos com medicamentos, descarte e menor produção de leite. O presente trabalho investigou a produção de biofilmes por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*, e quantificou as proteínas extracelulares e polissacarídeos das estirpes isoladas produtoras de biofilme. Foram utilizadas amostras de leite de 80 animais da raça Girolando, em Uberlândia, Minas Gerais, nos meses de fevereiro, abril e maio de 2014. A seleção das amostras de leite examinadas foi efetuada após a realização do CMT (California Mastitis Test) com reagentes positivos em animais que apresentavam mastite clínica. Foram colhidas amostras de leite armazenadas em tanque de expansão e de cada teteira por meio de pipetas e suabes estéreis respectivamente. As análises das estirpes isoladas foram realizadas no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia. O resultado das análises efetuadas mostrou que as estirpes isoladas produziram biofilme, principalmente as de *Staphylococcus aureus*, devido à ação do slime, glicocálix que induz a baixa resposta imune, mas também houve uma prevalência de *Escherichia coli*. A concentração de proteína presente na matriz

de biofilme não teve uma variação significativa entre os isolados, diferente da concentração de polissacarídeo. Essa variação na composição dos polímeros extracelulares na matriz do biofilme influencia diretamente na formação e patogenicidade do isolado. Logo, mostra-se necessária a adoção de estratégias de controle higiênico-sanitário, principalmente na sala de ordenha, minimizando a ineficiência do tratamento com destaque para o controle de estirpes de microrganismos produtoras de biofilme.

Palavras-chave: mastite, polímeros extracelulares, qualidade do leite.

22 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DE UMA PROPRIEDADE LEITEIRA NO MUNICÍPIO DE PERDIZES, ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

SANTOS, F. A. R.*; MARQUES, J. C. S.; SILVA, M. C. B.; LEÃO, I. M. R.*; LIMA, A. M. C.; ROQUETTE, J. J.

Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), CEP: 38400-902, Uberlândia/MG, Brasil. E-mail: iago leao@hotmail.com

O Estado de Minas Gerais, maior produtor de leite do Brasil, detém 26% da produção nacional. O Triângulo Mineiro e o Alto Paranaíba são as regiões com a maior produção de leite no Estado e o município de Perdizes destaca-se entre um dos vinte maiores produtores do Alto Paranaíba. Uma das dificuldades encontradas pelos produtores da região é a manutenção da contagem bacteriana total (CBT) e a contagem de células somáticas (CCS) em níveis baixos, garantindo, assim, a boa qualidade do leite e uma melhor remuneração por litro. O presente trabalho avaliou os resultados de CBT e de CCS em uma propriedade localizada no município de Perdizes, Estado de Minas Gerais, Brasil. Os dados foram monitorados durante o período compreendido entre maio de 2015 a abril de 2016. Os valores observados foram cotados com os parâmetros determinados na instrução normativa n. 62 (IN n. 62), de 29 de dezembro de 2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A fazenda possuía a média de 18 vacas em lactação, entre mestiças e da raça Girolando, que eram ordenhadas manualmente. A média geométrica de CBT durante o período da observação foi de 39.360 UFC/mL. O mês de janeiro de 2016 foi o que apresentou o mais alto valor de CBT, 152.510 UFC/mL. O menor valor de CBT foi registrado no mês de junho de 2015, 14.000 UFC/mL. A CCS apresentou média de 548.008 CS/mL; no mês de março de 2016 foi atingido o maior valor desse indicador, 1.416.684 CS/mL, e em setembro de 2015 o menor valor, com 344.767 CS/mL. Todos os resultados de CBT encontraram-se dentro do estabelecido pela IN n. 62 para o período analisado, já a CCS excedeu o limite nos meses em que a fazenda apresentou maior produção de leite, o que pode indicar uma falha no manejo dessa fazenda. Com sucessivas altas no custo de produção de propriedades leiteiras, motivadas principalmente pelo preço dos insumos, o controle da qualidade do leite, com a implementação de técnicas simples, pode garantir a obtenção de um melhor preço pago pelo litro do produto.

Palavras-chave: qualidade leite, CBT, CCS.

23 TERMODÚRICOS EM LEITE CRU REFRIGERADO

BRUZAROSKI, S. R.*1; REZENDE, S. 1; PINTO, L. B. 1; ALCANTARA, A. L. D. 2; BOTARO, B. G. 3; SANTANA, E. H. W. 3

1Discentes de Medicina Veterinária, Universidade Norte do Paraná, UNOPAR. E-mail: samera.rafaela@hotmail.com

2 Mestrando de Ciência em Tecnologia de Leite e Derivados, UNOPAR
3 Professores Titulares, Mestrado em Ciência em Tecnologia de Leite e Derivados, UNOPAR

Os microrganismos termodúricos são capazes de tolerar temperaturas de pasteurização e podem se multiplicar nos produtos lácteos processados, diminuindo sua qualidade e seu tempo de vida de prateleira. No presente trabalho foram coletadas, em tubos estéreis, 23 amostras de leite cru refrigerado de caminhões-tanques na plataforma de recepção de uma indústria beneficiadora, entre os meses de outubro e dezembro de 2015. Os leites foram encaminhados refrigerados em gelo reciclável imediatamente ao laboratório da Universidade Norte do Paraná para ser efetuada a verificação da população de mesófilos termodúricos e psicrotróficos termodúricos. Na execução das análises microbiológicas, 5mL por amostra de leite homogeneizado foram transferidos asépticamente para um tubo de ensaio estéril. As amostras foram aquecidas no banho de pasteurização a 62,80°C durante 30 minutos e refrigeradas a 100°C. Após essa etapa, as amostras foram semeadas por superfície em PCA (*Plate Count Agar*) e incubadas a 7°C₁₀ dias para pesquisa de psicrotróficos termodúricos.