

## ISOLAMENTO FÚNGICO EM LEITE DE VACAS COM MASTITE SUBLÍNICA

PEDRO RASSIER DOS SANTOS<sup>1</sup>; CAROLINE MIRANDA DA SILVEIRA<sup>2</sup>,  
HELENICE DE LIMA GONZALEZ<sup>3</sup>; CAROLINA LAMBRECHT GONÇALVES<sup>4</sup>;  
JOSÉ PABLO VILLARREAL VILLARREAL<sup>5</sup>; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rassier1907@gmail.com](mailto:rassier1907@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [helenicegonzalez@hotmail.com](mailto:helenicegonzalez@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [carol\\_mirandas@yahoo.com.br](mailto:carol_mirandas@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [carolina\\_lamg@yahoo.com.br](mailto:carolina_lamg@yahoo.com.br)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [pablov\\_v@hotmail.com](mailto:pablov_v@hotmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [pattsn@gmail.com](mailto:pattsn@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A mastite é uma inflamação da glândula mamária que pode ocorrer pela contaminação de bactérias, fungos e algas, por traumas provocados por agentes químicos, físicos, mecânicos, térmicos ou por problemas metabólicos (HOLANDA et al., 2005; COSTA, 1991) sendo subdividida em dois tipos: clínica e subclínica (LANGONI, 1997; COSTA et al., 1999). A mastite clínica caracteriza-se por alterações visíveis, como processo inflamatório na glândula mamária e alterações visíveis no leite (LANGONI, 1997; NADER FILHO et al., 2002; COSTA et al., 1999). Na mastite subclínica o processo infeccioso é diagnosticado somente utilizando métodos que permitam a detecção de alterações no número de células somáticas e na composição do leite, pois não há alterações macroscópicas no leite ou na glândula mamária, havendo apenas uma redução na produção leiteira (Costa, 1999).

As leveduras são os agentes fúngicos mais frequentemente relacionados às infecções da glândula mamária em bovinos de leite, sendo que a mastite por fungos filamentosos também pode ocorrer (KELLER et al., 2000; CHENGAPPA et al., 1984). O mau funcionamento do sistema de ordenha, manejo inadequado da ordenha, a falta de higiene e a limpeza das instalações e dos equipamentos, além do uso prolongado de terapia antimicrobiana por via intramamária são aspectos que influenciam o aparecimento de mastite micótica (RUZ-PEREZ et al., 2004; YAMAMURA et al., 2007) devido ao fato de as leveduras serem encontradas em uma grande variedade de substratos, como, por exemplo, no epitélio da glândula mamária, nos tetos, nas mãos dos ordenhadores, no solo e na água (RICHARD et al., 1980; BARNETT, 2000).

Dentro desse contexto, este projeto, vinculado ao Programa de Desenvolvimento da Bovinocultura Leiteira da Região Sul, visa capacitar alunos de graduação e produtores de leite para aplicação de processos de racionalização das atividades dentro do sistema de produção leiteira, promovendo a melhoria nos índices de sanidade dos rebanhos através de resultados positivos em produtividade. Além de orientar produtores para adoção de boas práticas agropecuárias, este projeto auxilia no diagnóstico da mastite fungica, tendo como objetivo isolar e identificar fungos de amostras de leite oriundos de vacas com mastite subclínica, que apresentaram resultado positivo ao CMT, de 21 propriedades localizadas no sul do Rio Grande do Sul participantes deste projeto.

### 2. METODOLOGIA

Foram analisadas 793 amostras de leite provenientes de 21 propriedades leiteiras do município de Pelotas (RS), participantes deste projeto, no período de

agosto de 2013 à fevereiro de 2015. As vacas foram previamente submetidas ao *California Mastite Teste* (CMT) onde a classificação do resultado é dada conforme a intensidade da reação formada: leve (+), moderada (++) e intensa (+++) (FONSECA; SANTOS, 2000).

Dos quartos positivos ao CMT foram coletadas as amostras de leite em tubos estéreis devidamente identificados. Para a coleta foi feita a desinfecção de cada teto com algodão embebido em álcool 70° GL e logo após as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Micologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas.

As amostras de leite foram semeadas em Placas de Petri, contendo Agar Sabouraud Dextrose acrescido de cloranfenicol. As amostras ficaram em estufa a 32°C durante sete dias. Quando houve crescimento fungico, este foi isolado para caracterização da macro e micromorfologia e através da identificação por provas bioquímicas pelo Sistema automatizado Vitek 2.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 793 amostras analisadas no período de um ano e meio, apenas 16 (2,01%) apresentaram crescimento leveduriforme. Das leveduras isoladas foram identificadas as espécies *Cryptococcus laurentii* (uma), *Candida famata* (uma), *Candida parapsilosis* (uma) e *Candida* spp. (13). Estas ainda em processo de identificação.

A maioria dos isolados é pertencente ao gênero *Candida*, como tem sido relatada por vários autores (WUNDER JÚNIOR, 2007; SANTOS & MARIN, 2005). A frequência de isolamento de leveduras obtida no presente estudo (2,01%) foi próxima daquelas relatadas por FARNSWORTH & SORENSEN (1972) e KRUKOWSKI et al. (2006), com valores de 3,2 e 4,3%, respectivamente. Em outra pesquisa realizada em São Paulo, com 2.078 amostras de leite de quartos normais e de quartos infectados, foi observado que 10,0% (208) correspondiam a leveduras, sendo 3,2% (66) pertencentes ao gênero *Candida* spp. (COSTA et al. 1993). Contudo, a literatura registra grande variação nos índices de infecções intramamárias ocasionados por leveduras, sendo citados valores que oscilam entre 0,1% e 17,3% (WILSON et al., 1997; SANTOS & MARIN, 2005).

Pode se observar que as infecções causadas por *Candida* spp., ocasionam rápida queda na produção leiteira, podendo até ocorrer agalaxia com lesões teciduais que podem ser extensas e irreversíveis (KRUKOWSKI; SABA, 2003). Na literatura não se tem muitos dados específicos sobre tratamento contra mastite fúngica, mas a nistatina, a natamicina, o fluconazol e o miconazol em solução, são citados por alguns autores para o tratamento intramamário em vacas com mastite por *Candida* spp. (NOBRE et al., 2002; KRUKOWSKI & SABA, 2003).

Os resultados micológicos obtidos foram encaminhados aos produtores para serem tomadas as devidas providencias. A participação de alunos e produtores neste trabalho é de fundamental importância para que se busque a racionalização da atividade leiteira com melhoria da sanidade do rebanho e de seus produtos dentro do Programa de Desenvolvimento da Bovinocultura Leiteira da Região Sul.

### 4. CONCLUSÕES

A partir da identificação das leveduras provenientes de leite de vacas com mastite subclínica de 21 propriedades localizadas no sul do RS, pode-se perceber que a maioria pertence ao gênero *Candida* spp., e embora a frequência de

isolados ainda seja baixa (2,01%), é de extrema importância identificar a levedura para que o diagnóstico e tratamento sejam específicos.

Além disso, pode-se auxiliar através da orientação dos produtores envolvidos no projeto, no diagnóstico da mastite fúngica e na melhoria de suas produtividades.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNETT, J.A. et al. **Yeast, characteristics and identification**. 3.ed. Cambridge: Cambridge University, 2000. 1150p.

CHENGAPPA, M.M. et al. Isolation and Identification of Yeasts and Yeastlike Organisms from Clinical Veterinary Sources. **Journal of Clinical Microbiology**, v.19, p.427-428, 1984.

COSTA, E.O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.1, p.21-26, 1991.

COSTA, E.O. et al. Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the State of São Paulo, Brazil. **Mycopathologia**, v.124, p.13-17, 1993.

COSTA, E.O.; PONCE, H.; WATANABE, E.T.; VALLE, C.R. Avaliação da terapia de mastite clínica: eficácia da terapêutica medida em números de dias de tratamento. *Napagama*, n.2, p.10-14, 1999.

FARNSWORTH, R.J.; SORENSEN, D.K. Prevalence and species distribution of yeasts in mammary glands of dairy cows in Minnesota. **Canadian Journal Comparative Medicine**, v.36, p.329-332, 1972.

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

HOLANDA JUNIOR, E. V.; MADALENA, F. E.; HOLANDA, E. D.; MIRANDA, W. M.; SOUZA, M. R. Impacto econômico da mastite em seis fazendas de Araxá – Minas Gerais, Brasil, set 2004. **Archivos Latinoamericano Producción Animal**, v. 13, n. 2, p.63-69, 2005.

KELLER, B. et al. Differentiation of yeasts in mastitis milk. **Mycoses**, v.1, p.17-19, 2000.

KRUKOSWKI, H. et al. Yeast and algae isolated from cows with mastitis in south eastern part of Poland. **Poland Journal Veterinary Sciences**, v.9, n.3, p.181-184, 2006.

LANGONI, H. Agentes emergentes na etiologia da mastite. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.19, p.238-240, 1997.

LOFTSGARD, G.; LINDQUIST, K. Bovine mycotic mastitis. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.1, p.201-220, 1960.

NADER FILHO, A.; MANGERONA, A.C.S.; MOURA, E.S. Eficácia da associação sinérgica de betalactâmicos em suspensão oleosa no tratamento intramamário da mastite de vacas em lactação. *Napgama*, n.1, p.20-22, 2002.

NOBRE, M.O. et al. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. Revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, v.32, p.175- 184, 2002.

RICHARD, J.L. et al. Identification of yeasts from infeted bovine mammary glands and their experimental infectivity in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.48, p.1991-1994, 1980.

RUZ-PEREZ, M. et al. Pesquisa de fungos no leite de tanques de refrigeração de propriedades de exploração leiteira. **Arquivo Instituto Biológico**, v.71, p.663-665, 2004.

SANTOS, R.C.; MARIN, J.M. Isolation of **Candida** spp from mastitic bovine milk in Brazil. **Mycopathologia**, v.59, p.251- 253, 2005.

YAMAMURA, A.A.M. et al. Isolamento de **Prototheca** spp. de vacas com mastite, de leite de tanques de expansão e do ambiente de animais. **Semina: Ciências Agrarias**, v.28, p.105-114, 2007.

WILSON, D.J. et al. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **Journal of Dairy Sciences**, v.80, p.2592-2598, 1997.

WUNDER JÚNIOR, E.A. **Mastite Bovina: avaliação microbiológica do leite, com ênfase nas leveduras isoladas de casos de mastite clínica e subclínica, na região do planalto médio-RS, em 2005 e 2006. 2007.** 68f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.