

**AVALIAÇÃO IN VITRO DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP.
PARATUBERCULOSIS (MAP) SOB *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM LEITE
BOVINO**

Lucas Silva Gern, David Germano Gonçalves Schwarz

INTRODUÇÃO

O estudo do processo coinfectivo é fundamental para compreender as interações que ocorrem entre microrganismos durante as etapas de infecção. Algumas bactérias, como *Staphylococcus aureus*, são conhecidas por causar mastite em bovinos (MULLER, 1978), uma doença muito comum no gado leiteiro que provoca processos inflamatórios na glândula mamária (MASSOTE, 2019). Por outro lado, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) é o agente etiológico da paratuberculose, que afeta o trato intestinal de ruminantes e se dissemina pelo organismo (COCITO, 1994). Esse agente pode atingir as glândulas mamárias e ser potencialmente excretado no leite para a prole (CUNHA, 2009), embora não esteja associado à mastite clássica. Em conjunto, essas bactérias podem coexistir na glândula mamária, e sua presença concomitante pode interferir no processo multiplicativo, embora ainda não haja estudos que abordem essas interações no leite. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar se a presença de MAP em leite bovino pode influenciar na multiplicação de *Staphylococcus aureus*, isolado de mastite.

DESENVOLVIMENTO

A cepa K-10 de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) foi inoculada a 37 °C em caldo Middlebrook 7H9 suplementado com micobactina J por 20 semanas. Após esse período, a cultura e o leite pasteurizado comercial foram submetidos ao teste de inocuidade em ágar sangue e incubados a 37 °C por 48 h. A ausência de crescimento bacteriano nesse intervalo foi considerada indicativa de ausência de contaminação.

Para o ensaio de coinfecção em leite, inicialmente realizou-se a quebra dos agregados de MAP utilizando seringa e agulha 25G. Em seguida, os microtubos foram centrifugados a 12.000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante foi descartado e o pellet lavado duas vezes com solução salina (NaCl 0,9%). Posteriormente, adicionou-se 1 mL de leite a cada tubo contendo os pellets lavados de MAP, os quais foram homogeneizados em vórtex e incubados a 37 °C por 48 h. Paralelamente, uma cepa de *Staphylococcus aureus* foi cultivada em caldo BHI (3 mL) por 24 h a 37 °C e, posteriormente, repicada em ágar sangue sob as mesmas condições. Esse procedimento visou assegurar culturas puras no momento da inoculação no leite. Após atingirem turbidez equivalente à escala de McFarland 0,5, correspondente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, 1 mL das culturas foi transferido para microtubos e submetido ao mesmo procedimento de lavagem descrito anteriormente.

Após a homogeneização, amostras de leite contendo *S. aureus* + MAP e apenas *S. aureus* foram cultivadas em caldo BHI por 1, 4, 8, 12, 16 e 24 h. Decorrido o período de crescimento, realizou-se a contagem de microrganismos em placas a partir de uma diluição por tempo de cultivo, e os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia (UFC) para análise comparativa. Todo o processo experimental foi realizado em duplicata.

RESULTADOS

Ao avaliar a multiplicação de *S. aureus* em leite contendo ou não MAP, verificou-se que a presença desse microrganismo interferiu na multiplicação de *S. aureus*, reduzindo seu crescimento independentemente do tempo de cultivo durante as primeiras 24 h (Figura 1). A maior diferença entre as amostras com ou sem MAP foi observada a partir de 8 h pós-inoculação. Contudo, os valores apresentaram maior aproximação em torno de 24 h, ainda que permanecessem discrepantes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível verificar que a presença de MAP reduziu a formação de UFC de *Staphylococcus aureus* no leite bovino, indicando que animais com paratuberculose poderiam apresentar infecções por *S. aureus* menos intensas. Ou seja, vacas com paratuberculose poderiam representar um fator de proteção contra mastites. O ineditismo de nossos achados reforça que o conhecimento acerca do comportamento de microrganismos em processos de coinfeção é de grande importância para a produção animal, pois pode explicar a heterogeneidade das manifestações clínicas de mastite quando os animais apresentam doenças concomitantes. Embora o estudo coinfectivo de MAP e agentes da mastite bovina ainda precise ser aprofundado, o presente estudo revelou que, mesmo não sendo representante etiológico clássico da mastite, MAP pode interferir na apresentação infectológica dessa doença.

Palavras-chave: paratuberculose; mastite; coinfeção; glândula mamária.

ILUSTRAÇÕES

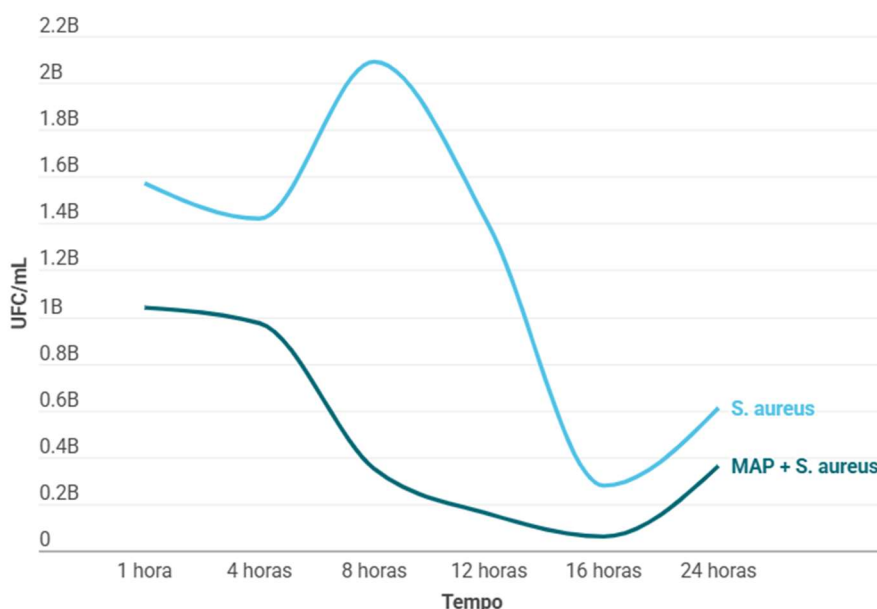


Figura 1. Curva de crescimento de *Staphylococcus aureus* (por UFC/mL) na presença ou ausência de *Mycobacterium avium* susp. paratuberculosis em leite bovino

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MULLER, Ernst Eckehardt. *Estudo da prevalência de mastite bovina*. 1978. p. 47-48.
- MASSOTE, Vitória Pereira; et al. Diagnóstico e controle de mastite bovina: uma revisão de literatura. *Revista Agro Veterinária do Sul de Minas*, ISSN 2674-9661, v. 1, n. 1, p. 41-54, 2019.
- COCITO, Carlo; et al. Paratuberculosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 7, n. 3, p. 328-345, 1994.
- CUNHA, Márcio Ferraz; BALLUS, Cristiano Augusto. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: uma preocupação para a indústria de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 64, n. 366, p. 3-11, 2009.

DADOS CADASTRAIS

BOLSISTA: Lucas Silva Gern

MODALIDADE DE BOLSA: Voluntária

VIGÊNCIA: 09/2024 a 08/2025 – Total: 12 meses

ORIENTADOR(A): David Germano Gonçalves Schwarz

CENTRO DE ENSINO: CAV

DEPARTAMENTO: Medicina Veterinária

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Ciências Agrárias / Medicina Veterinária

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Avaliação in vitro de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) sob *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em leite bovino.

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: PVAV149-2024