

IDENTIFICAÇÃO DE *KOCURIA KRISTINAE* EM AMOSTRAS DE LEITE DE VACA COM MASTITE SUBCLÍNICA

CRISTINA HALLAL DE FREITAS¹; NATALIA VANONI PIVA²; PATRÍCIA JACOB DOS SANTOS³; JOSIARA FURTADO MENDES REDU⁴; HELENICE DE LIMA GONZALEZ⁵; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas- crishallal@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas- nativpiva@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas- pati-j@ibest.com.br

⁴Universidade Federal do Rio Grande do Sul- josiara.mds@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas- h.gonzalez@terra.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – patasn@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

Mastite é a denominação do processo inflamatório da glândula mamária. Sua etiologia pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica e infecciosa, sendo as causas infecciosas as principais, destacando-se as de origem bacteriana (COSTA, 1998). Um dos grandes problemas da mastite no rebanho é a sua prevalência silenciosa, ou seja, subclínica, determinando perdas de até 70%, enquanto 30% devem-se à mastite clínica (COSER et al., 2012).

As infecções intramamárias são frequentes e importantes em bovinos leiteiros, sendo responsáveis por grandes prejuízos à pecuária leiteira, pois ocasionam redução na produção de leite, gastos com medicamentos e assistência veterinária, descarte de leite contaminado após tratamento e descarte precoce de animais doentes (COSTA et al., 1999).

Além dos agentes causadores da mastite serem responsáveis por grandes prejuízos à pecuária leiteira, apresentam resistência a diversos antibióticos utilizados rotineiramente no tratamento desta doença. Desta forma, é de grande importância o isolamento e identificação desses agentes em laboratórios e a análise *in vitro* da sensibilidade antimicrobiana para um melhor controle através de terapêutica adequada (FREITAS et al., 2005).

Kocuria spp. é um membro da família *Micrococcaceae* e consiste em nove espécies. Esses organismos são frequentemente encontrados como microbiota da pele de seres humanos e outros mamíferos, são aeróbios, coccus gram-positivos e a maioria das estirpes não são patogênicas (MA et al., 2005). No entanto, essa bactéria pode ser um potencial agente causador de mastite, embora não exista na literatura relatos que comprovem essa hipótese.

Dentro desse contexto, o objetivo do presente trabalho é relatar três casos em que a *Kocuria kristinae* foi identificada como único agente bacteriano em amostras de leite de vacas com mastite subclínica, assim como apresentar a sensibilidade antimicrobiana *in vitro* dessa bactéria.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados leites em 11 propriedades localizadas na região do município de Pelotas, RS, caracterizadas por rebanhos das raças Holandês e Jersey. As amostras de leite foram coletadas em tubos estéreis identificados, utilizando-se previamente algodão embebido em álcool 70° GL para desinfecção da extremidade dos tetos. Essas amostras foram colhidas dos quartos mamários

que apresentaram mastite subclínica, verificada através do *California Mastitis test* (CMT), onde a classificação é dada conforme a intensidade da reação formada: leve (+), moderada (++) e intensa (+++) (FONSECA; SANTOS, 2000).

Após coletadas, as amostras foram refrigeradas e encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Faculdade de Veterinária da UFPel. As amostras foram semeadas em placas de Petri contendo ágar sangue com 6% de sangue ovino desfibrinado, incubados a 37°C e posterior leitura em 48 horas. As colônias isoladas foram identificadas através da observação da ocorrência de Hemólise, coloração de Gram, Catalase, teste da Coagulase e provas bioquímicas específicas (BRASIL, 2000). A confirmação da espécie bacteriana em questão foi dada através do sistema Vitek 2[®].

Para realização de antibiograma, as mesmas colônias isoladas foram inoculadas em Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e este incubado a 37°C por 48 horas. Posteriormente foram semeadas em ágar Mueller-Hinton para o teste de suscetibilidade a antimicrobianos. A técnica utilizada foi a de disco de difusão de Bauer (BRASIL, 2003). Os antimicrobianos testados foram Amoxicilina (10 µg/disco), Bacitracina (10 µg/disco), Cefalexina (30 µg/disco), Ceftiofur (30 µg/disco), Enrofloxacin (5 µg/disco), Gentamicina (10 µg/disco), Neomicina (30 µg/disco), Norfloxacin (10 µg/disco), Penicilina G (10 µg/disco), Tetraciclina (30 µg/disco) e Trimetoprima (5 µg/disco).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Das 11 propriedades visitadas, observaram-se animais com resultados CMT positivo em todas elas, num total de 1120 quartos analisados. Dentre estas amostras de leite, em 650 observou-se isolamento bacteriano e destes, em três amostras foram isoladas a bactéria *Kocuria kristinae*, conforme identificado no sistema Vitek 2.

Dos três isolados, dois foram provenientes de uma mesma propriedade. As colônias isoladas apresentaram coloração amarelada, não hemolíticas no ágar sangue. Na microscopia observaram-se cocos gram positivos e reação catalase positiva, características essas que estão de acordo com as descritas por BOUDEWIJNS et al.(2005) para a *Kocuria kristinae*.

No teste da coagulase, as duas colônias isoladas da mesma propriedade apresentaram resultado positivo, portanto, somente uma apresentou resultado de acordo com a literatura, em que caracteriza essa bactéria como coagulase negativa (TSAI et al., 2010).

Em relação aos testes de sensibilidade antimicrobiana, nenhum dos antibióticos apresentou 100% de eficácia, ou seja, nenhum dos antibióticos testados acima citados foram efetivos aos três isolados. A Amoxicilina, a Bacitracina, a Enrofloxacin e a Penicilina G foram os que apresentaram os melhores resultados, ou seja, 67% (duas) das cepas se apresentaram sensíveis a esses antibióticos. Diante da Cefalexina, da Neomicina, da Tetraciclina e da Trimetoprima, todas as cepas mostraram-se resistentes. No estudo realizado por MA et al.(2005), em que os autores relatam a relação da *Kocuria kristinae* com a colecistite aguda, o isolado foi sensível à penicilina, cloxacilina, eritromicina, clindamicina, linezolida, trimetoprima, vancomicina e levofloxacin.

A *Kocuria* spp. é comumente encontrada na pele humana (MA et al., 2005), podendo ter sido disseminada nos animais através das mãos dos ordenhadores durante a ordenha. Isso explica a importância da conscientização do ordenhador dos procedimentos adequados de ordenha, incluindo as formas corretas de higienização e desinfecção do ambiente, do animal, do profissional e de todos os utensílios utilizados na ordenha.

4. CONCLUSÕES

Através das amostras de leites coletados de vacas com mastite subclínica, foi relatado três casos em que a bactéria *Kocuria kristinae* foi isolada e identificada, apresentando alta resistência frente a maioria dos antibióticos testados. Visto que não há relatos como esse na literatura, torna-se importante a continuidade do estudo desses casos, visando contribuir para o tratamento da mastite.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOUDEWIJNS, M.; VANDEVEN, J.; VERHAEGEN, J. Vitek 2 Automated Identification System and *Kocuria kristinae*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.43, n.11, p. 5832, 2005.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica, Módulo V. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde, 2000.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada. 8ª Edição, Janeiro de 2003.

COSER, S.M.; LOPES, M.A.; COSTA, G.M. **Mastite bovina: controle e prevenção**. 2012. 31f. Monografia (Especialização em Defesa Sanitária Animal)-Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras.

COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista da Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v.1, n.1, p.3-7, 1998.

COSTA, E.O.; SÁ, R.; PONCE, H.; WATANABE, E.T.; VALLE, C.R. Avaliação da terapia de mastite clínica: eficácia terapêutica medida em número de dias em tratamento. **Revista Nappama**, São Paulo, v.2, n.2, p.10-14, 1999.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p.39-141.

FREITAS, M.F.L.; PINHEIRO, J.W.; STAMFORD, T.L.M.; RABELO, S.S.de A.; SILVA, D.R.; SILVEIRA FILHO, V.M.; SANTOS, F.G.B.; SENA, M.J.; MOTA, R.A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus coagulase* positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.72, n.2, p.171-177, 2005.

MA, E.; WONG, C.; LAI, K.; CHAN, E.; YAM, W.C.; CHAN, A. *Kocuria kristinae* infection associated with acute cholecystitis. **BMC Infectious Diseases**, doi:10.1186/1471-2334-5-60, 2005.

TSAI, C.Y.; SU, S.H. CHENG, Y. H.; CHOU, Y.L.; TSAI, T.H.; LIEU, A.S. *Kocuria varians* infection associated with brain abscess: A case report. **BMC Infectious Diseases**, doi:10.1186/1471-2334-10-102, 2010.