



PESQUISA DE *PROTOTHECA* SPP. EM LEITE PRODUZIDO NA REGIÃO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL

SOTILI, Ana Cristina¹; GALLON, Bruna Elise²; SPEROTTO, Vitor da Rocha³

Palavras-Chave: Alga. Leiteira. Mastite.

INTRODUÇÃO

Algas do gênero *Prototheca* spp. pertencentes a família Chlorellaceae são destituídas de clorofila, estão difundidas por toda a natureza principalmente em habitats ricos em matéria orgânica (LASS-FLÖRL; MAYR, 2007) e tem sido identificadas como agentes causadores de doenças em humanos e animais (ROESLER; SCHOLZ; HENSEL, 2001).

São causadores de mastite em bovinos, apresentando-se de forma endêmica na maioria das vezes (LASS-FLÖRL; MAYR, 2007). São transmitidas de animal para animal durante a ordenha, associadas à má higienização das teteiras e condições precárias do meio ambiente (COSTA *et al.*, 1996). Não respondem às terapias de rotina para controle de mastite, sendo a única medida de controle, até então, a eliminação dos animais infectados, (CUC *et al.*, 2010). Apresentam alta resistência a processos de desinfecção e tem mostrado elevado potencial zoonótico (MELVILLE *et al.* 1999)

O Rio grande do Sul é o segundo estado de maior produção de leite no Brasil, com 14% do total produzido (IBGE, 2016), é na região noroeste do estado que a atividade é mais expressiva (GOMES, 2010), sendo de grande interesse a pesquisa desde agente nesta importante bacia leiteira, considerando o caráter zoonótico e os crescentes problemas registrados em todo o mundo causados por estas algas. Este trabalho objetiva identificar a presença de algas em amostras de leite de tanques de expansão, produzido na região noroeste do Rio Grande do Sul.

¹Bolsista PIBIC/Unicruz, acadêmica do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta -Unicruz . anacristinasotili@hotmail.com

² Voluntária PIBIC/Unicruz, acadêmica do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta -Unicruz gallon.bruna@hotmail.com

³Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta -Unicruz . vrocha@unicruz.edu.br



MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite utilizadas para pesquisa de *Prototheca* spp. foram obtidas dos tanques de expansão de propriedades leiteiras da região Noroeste do Rio Grande do Sul, coletadas em frascos estéreis identificados, com volume de 10 ml. O transporte foi feito em caixas isotérmicas com gelo. No laboratório uma alíquota de 5 ml de leite foi adicionada a 1mL de Meio de Enriquecimento para *Prototheca* (MEP), mantidas em agitação por 96 horas, conforme Pore *et. al.* (1987). Após semeou-se uma fração de 100µl de leite com MEP em placas com meio sólido de Ágar Sabouraud-dextrose com cloranfenicol, foram mantidas em estufa a 37° C por 72 a 120 horas, as colônias que se assemelharam a alga foram subcultivadas no mesmo meio em tubos, também foram feitos esfregaços das colônias de interesse corados com azul de algodão, para confirmação da presença da alga pela morfologia vista em microscópio óptico em aumento de 400x.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram coletadas 45 amostras de leite de propriedades pequenas e médias, de 18 municípios da Região Noroeste do Rio Grande do Sul. Isolou-se *Prototheca* spp. em 22 das amostras analisadas, na Tabela 1 são mostradas os resultados em relação aos municípios.

Em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, observaram-se colônias de coloração branca a dourada, rugosas com bordas irregulares, achados semelhantes aos relatados por Yamamura *et al.* (2007) e Bexiga, Cavaco e Vilela (2003). O exame microscópico dos esfregaços revelou células ovais ou esféricas, com característica de endosporulação, apresentando endósporos no interior de uma célula mãe, características outrossim descritas por Lass-Flor e Mayr (2007), Bexiga, Cavaco e Vilela (2003).

No estudo realizado, por Pore *et. al.* (1987), com 787 amostras obtidas de tanques de expansão, 28 amostras foram positivas para presença de *Prototheca* spp.(3,6%), Yamamura *et al.* (2007), utilizando a mesma metodologia, para 81 amostras obtidas de tanques de expansão e latões, 10 foram positivas para presença de *Prototheca* spp. representando 12,2%, ambos os trabalhos demonstram que presença da algas em propriedades leiteira é bastante comum, mesmo em propriedades sem casos aparentes de mastite.



Tabela 1 – Amostras coletadas em municípios do Estado do Rio Grande do Sul, representando a quantidade de amostras e amostras positivas para presença de *Prototheca* spp. após cultivo e avaliação morfológica.

Local	Quantidade amostras	Quantidade de amostras positivas
Campina das missões	4	3
Cândido Godói	1	1
Condor	3	0
Catuípe	2	2
Espumoso	2	0
Fortaleza dos valos	1	0
Giruá	3	3
Ijuí	2	2
Independência	2	1
Nova candelária	5	1
Novo machado	1	1
Palmeira das Missões	1	0
Santa Rosa	7	3
Senador Salgado Filho	1	1
Três de Maio	3	3
Tucunduva	4	1
Tuparendi	2	0
Ubiretama	1	0
TOTAL	45	22

A distribuição das algas pelo meio ambiente, e sua alta ocorrência em propriedades leiteiras, favorece a infecção das glândulas mamárias de vacas lactantes, que são mais suscetíveis a infecções neste período. Os animais infectados podem apresentar mastite clínica ou subclínica. A forma clínica é caracterizada pela queda acentuada na produção de leite, presença de flocos brancos nos primeiros jatos, aumento dos quartos com desenvolvimento de processo inflamatório granulomatoso (COSTA *et al.*, 1996). A forma subclínica também causa queda na produção de leite, alta contagem de células somáticas e alterações na constituição nutricional, persistindo mesmo em período seco, não apresenta sinais clínicos evidentes, sendo subdiagnosticada (COSTA *et al.*, 1996; BEXIGA; CAVACO; VILELA, 2003). Não existe tratamento terapêutico efetivo, o descarte dos animais infectados é a única alternativa (CUC *et al.*, 2010), considerando a transmissão de animal para animal durante a ordenha (COSTA *et al.*, 1996).

Yamamura 2008, constatou que terneiros alimentados com leite de vacas com mastite causada por *Prototheca* spp. disseminam o agente pelo ambiente através das fezes, contribuindo para novas infecções.

A infecção em humanos se apresenta por lesões cutâneas, bursite de olecrano, ou infecções disseminadas, geralmente relacionadas a traumas e imunossupressão (LASS-



FLÖRL; MAYR, 2007), além de distúrbios gastrointestinais como relatado por Costa *et al.* (1998), em um indivíduo saudável que consumiu queijo fresco feito com leite contaminado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS OU CONCLUSÃO

A pesquisa mostra a presença do agente no leite produzido na região e o risco que isso pode determinar na saúde humana e animal, assim como impacto econômico, já que não existe tratamento efetivo.

REFERÊNCIAS

BEXIGA. R.: CAVACO, Lina; VILELA, C. L. Isolamento de *Prototheca zopfii* a partir de leite bovino Isolation of *Prototheca zopfii* from **bovine milk**. 2003.

COSTA E.O. *et al.* Bovine mastitis due to algae of the genus *Prototheca*. **Mycopathologia**, v.133, p. 85-88, 1996.

COSTA, E. O. *et al.* Relato de um caso de consumo de queijo fresco contaminado com *Prototheca* spp. Napgama I, p. 9-10, 1998.

CUC, C. (BOUARI) *et al.* The Inhibitory Effect of Some Natural Essential Oils upon *Prototheca* Algae *in vitro* Growth. **Bulletin UASVM**, Veterinary Medicine, v. 67, 2010

GOMES. Ezio José. Estratégias das Grandes Indústrias no Sul do Brasil. Centro, v. 1, n. 7, p. 3-7, 2010.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE - **Estatística da produção pecuária**. Dezembro 2016.

LASS-FLÖRL, C.; MAYR, A. Human Protothecosis. **Clinical Microbiology Reviews**, Apr. 2007, p. 230–242

MELVILLE. P. A. *et al.* Evaluation of the susceptibility of *Prototheca zopfii* to milk pasteurization. **Mycopathologia**, v. 146, n. 2, p. 79-82, 1999.

PORE. R. S. *et al.* Occurrence of *Prototheca zopfii*, a mastitis pathogen, in milk. **Veterinary microbiology**, v. 15, n. 4, p. 315-323, 1987.

ROESLER, U.; SCHOLZ, H.; HENSEL, A. Immunodiagnostic Identification of Dairy Cows Infected with *Prototheca zopfii* at Various Clinical Stages and Discrimination between Infected and Uninfected Cows. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, p. 539–543, 2001.

YAMAMURA. Aline Artioli Machado *et al.* Isolamento de *Prototheca* spp. de vacas com mastite. de leite de tanques de expansão e do ambiente dos animais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 105-113, 2007.

YAMAMURA, Aline Artioli Machado *et al.* Fatores de risco associados à mastite bovina causada por *Prototheca zopfii*. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 755-760, 2008.