



ISOLAMENTO DE BACTERÍOFAGOS PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE BACTÉRIA CAUSADORA DE MASTITE BOVINA

Universidade Federal de Viçosa – Centro de Ciências Agrárias - Departamento de Biologia Geral – Microbiologia – Pesquisa

Mariana Napoleão Pyrâmides – Graduanda em Medicina Veterinária – UFV (mariana.pyramides@ufv.br); Jéssica Duarte da Silva – Doutoranda em Biologia UFV (jessica.duart.s@gmail.com); José Júnior Ferreira Soares – Graduando em Biologia UFV (jose.soares@ufv.br); Roberto Souza Dias – Pesquisador Funarbe (roberto.dias@ufv.br); Sérgio Oliveira de Paula – Professor Titular UFV (depaula@ufv.br).

Palavras-chave: Mastite, bacteriófagos, controle biológico.

Introdução

A mastite bovina é uma doença que se caracteriza pela inflamação da glândula mamária e pode ser classificada de acordo com os agentes causadores. É considerada mastite contagiosa quando as infecções são causadas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Mycoplasma bovis*; e mastite ambiental quando ocasionada por *Streptococcus* ambientais e Coliformes. Atualmente, o tratamento é realizado com o uso de antibiótico. Porém, devido ao alto custo e ao aumento da resistência bacteriana por causa do uso indiscriminado dos fármacos, foi observado a necessidade de tratamentos alternativos. Sendo assim, a fagoterapia tem sido recorrente na Medicina Veterinária por utilizar partículas virais capazes de invadir as células bacterianas, destruir o metabolismo e provocar dissolução celular.

Objetivos

O objetivo desse trabalho foi isolar bacteriófagos específicos contra a espécie *Staphylococcus aureus* visando a utilização deles no controle biológico bacteriano.

Material e Métodos

Foram utilizadas 5 cepas bacterianas *S. aureus* 3907; *S. aureus* 3906; *S. aureus* 222; *S. aureus* O46 e *S. aureus* O11. As amostras foram ativadas por estrias compostas. Foi realizada a Coloração de Gram para confirmação morfológica dos isolados bacterianos que se mostraram condizentes com o arranjo e a coloração características do gênero. Após confirmação, as colônias bacterianas foram incubadas overnight. Objetivando o isolamento viral, o mesmo volume de amostra da rede de esgotos da cidade de Viçosa- MG foi adicionado aos tubos contendo as bactérias já crescidas. Após nova etapa de incubação overnight, o conteúdo foi vertido em placa de petri. Após 24 horas foi possível observar placas de lise nas placas da cepa *S. aureus* O11. As placas foram então recortadas e propagadas. Após incubação overnight, o propagado foi centrifugado e filtrado. A confirmação do isolamento do fago se deu pela técnica de “spot test assay”. Após incubação, foi identificado halos de ausência do crescimento bacteriano decorrentes da infecção do fago presente no sobrenadante.

Resultados e Discussão

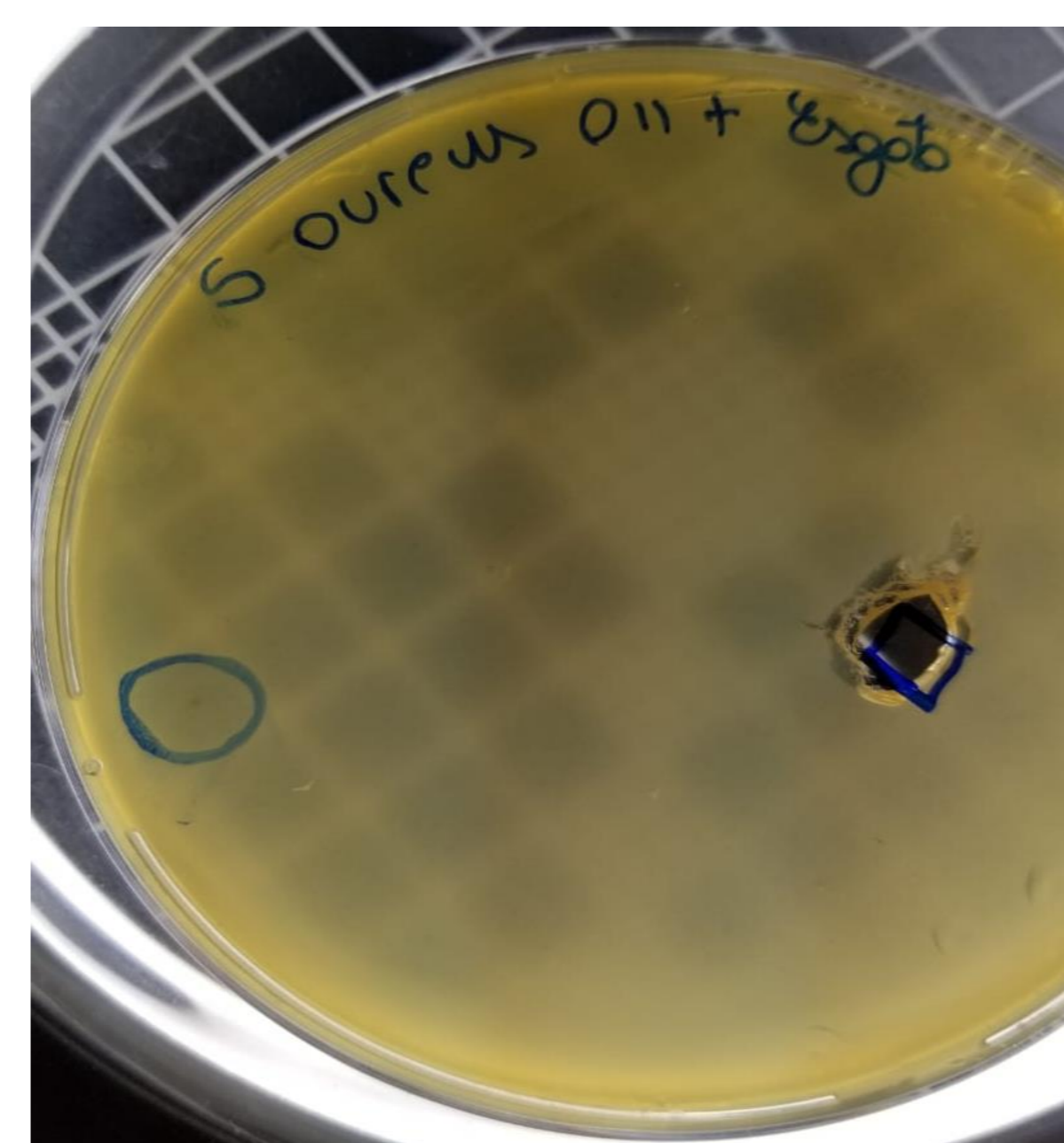


Imagem 1: Plaqueamento de bacteriófagos cepa-específicos para *Staphylococcus aureus* O11 com a presença de placas de lise

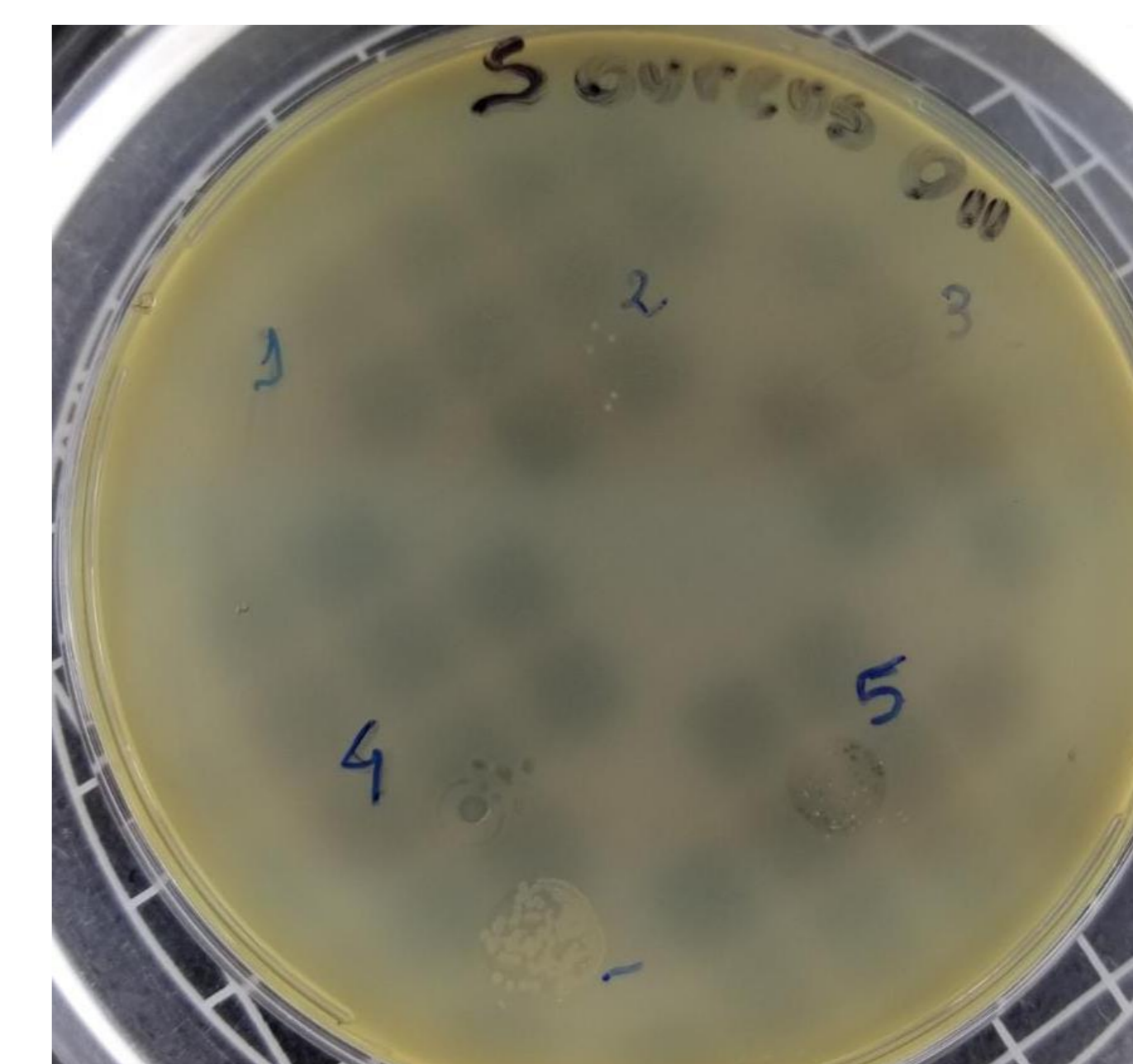


Imagem 2: Técnica “Spot Test Assay”

Na imagem 1, é possível identificar um halo de inibição celular circulado em azul. Este halo indica morte da célula bacteriana causada pela ação de um bacteriófago. Ainda, é possível observar uma zona recortada. Esta zona recortada foi usada no teste representado na imagem 2.

A técnica “Spot Test Assay” foi realizada com 5 amostras, porém apenas a amostra 5, identificada na imagem 2, formou halo de inibição. Assim, é possível confirmar apenas um isolamento de bacteriófago capaz de causar lise celular na cepa *S. aureus* O11. A sensibilidade da técnica no tapete bacteriano é indicativo, mas não nos permite afirmar se o isolamento foi referente à um fago com genes líticos ou lisogênicos. Para isso, mais estudos precisam ser desenvolvidos

Conclusões

Assim, nossos resultados indicaram a confirmação do isolamento de fagos possivelmente líticos capazes de atuarem no controle biológico da espécie *Staphylococcus aureus*.

Bibliografia

PERES, F e ZAPPA, P. Mastite em vacas leiteiras – Revisão de Literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária – FAMED/FAEF e Editora FAEF, São Paulo, Número 16. 2011.
WALCHER, U. Mastite Bovina. Revisão bibliográfica – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária. Porto alegre. 2011.

Agradecimentos

Departamento de Biologia Geral -UFV
Laboratório de Imunovirologia Molecular - UFV