

IDENTIFICAÇÃO DE COCOS GRAM-POSITIVOS, CATALASE NEGATIVOS ISOLADOS DE LEITE DE VACAS COM MASTITE POR SEQUENCIAMENTO E ESPECTROMETRIA DE MASSA MALDI-TOF

Larissa da Costa Teodoro¹; Claudia de Oliveira Pinto²; Otávio Augusto Braga de Paula^{3*}; Veviane Farina Mauler⁴; Raquel Perobelli de Oliveira⁵; Nívea Maria Vicentini²; Carla Christine Lange^{2*}

¹Bolsista BDCTI-IV Fapemig. ²Embrapa Gado de Leite. ³Bolsista DTI-C CNPq-Embrapa.

⁴Universidade Estácio de Sá - São José/SC. ⁵Egresso Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados UFJF. *E-mail do autor apresentador: carla.lange@embrapa.br.

A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária, que pode ser causada por um grande número de diferentes microrganismos. A identificação de alguns desses microrganismos pode ser difícil em virtude da grande semelhança bioquímica e fenotípica que existe entre eles, mas técnicas baseadas na espectrometria de massa e análise de DNA têm auxiliado na identificação. O objetivo deste estudo foi identificar um grupo específico de agentes etiológicos da mastite bovina, os cocos Gram-positivos, catalase-negativos, pela técnica de Ionização por Dessorção a Laser Assistida por Matriz com analisador por tempo de voo (MALDI-TOF MS) e pelo sequenciamento do gene 16S rDNA. Quarenta e seis estirpes de cocos Gram- positivos, catalase-negativos foram submetidas à identificação por estas duas técnicas, 38 estirpes isoladas de leite de vacas com mastite e oito bactérias- padrão. As estirpes pertencem à Coleção de Microrganismos de Interesse da Agroindústria e Pecuária da Embrapa. Por MALDI-TOF MS foram identificadas 45 das 46 estirpes (97,8%), com escores de identificação que variaram de 1,8 a 2,5. Pelo sequenciamento do gene 16S rDNA todas as estirpes foram identificadas, com porcentagens de identificação que variaram de 94% a 100%. A porcentagem de identificação do sequenciamento de três estirpes ficou abaixo de 99%. Nove estirpes foram identificadas em mais de uma espécie com a mesma porcentagem de identificação, ou seja, não foi feita a diferenciação entre as espécies. De modo preliminar as estirpes foram identificadas nos gêneros *Streptococcus* (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. equinus/lutetiensis*, *S. pluranimalium*, *S. parauberis*, *S. oralis* e *S. penaeicida*), *Enterococcus* (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae* e *E. avium*), *Lactococcus* (*L. lactis* e *L. garvieae*) e *Aerococcus* (*A. viridans*). As duas técnicas permitiram a correta identificação das bactérias-padrão, utilizadas como controles. Numa comparação preliminar entre as duas técnicas, houve concordância na identificação de 42 estirpes (91,3%). O sequenciamento de outro gene, como por exemplo o gene *rpoB*, será utilizado num futuro experimento na tentativa de identificação inequívoca, em nível de espécie, de todas as estirpes.

Palavras-chave: *Streptococcus*; *Enterococcus*; *Lactococcus*.

Agradecimentos: Embrapa (10.20.02.009.00.00), Fapemig (APQ-00017-18) e CNPq.