

## RELAÇÃO ENTRE OS CASOS DE MASTITE CLÍNICA, SUBCLÍNICA COM O ISOLAMENTO MICROBIOLÓGICO DO LEITE BOVINO EM UMA PROPRIEDADE DO SUL DO RIO GRANDE DO SUL.

TÁSSIA GOMES GUIMARÃES<sup>1</sup>; ÂNGELA FACCIN<sup>2</sup>; CAROLINA LAMBRECHT GONÇALVES<sup>3</sup>; DIANE BENDER ALMEIDA SCHIAVON<sup>4</sup>; MARÍLIA DA SILVA CARVALHO<sup>5</sup>; LUIZ FILIPE DAMÉ SCHUCH<sup>6</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [tagogui@gmail.com](mailto:tagogui@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [angefaccin@gmail.com](mailto:angefaccin@gmail.com)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [carolina\\_lamg@yahoo.com.br](mailto:carolina_lamg@yahoo.com.br)

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [dianebalmeida@gmail.com](mailto:dianebalmeida@gmail.com)

<sup>5</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [mariliacarvalhovet@hotmail.com](mailto:mariliacarvalhovet@hotmail.com)

<sup>6</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – [bitoxu@ig.com.br](mailto:bitoxu@ig.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária considerada a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros mundialmente. Ela ocasiona grandes prejuízos econômicos, tanto pela redução na quantidade de leite, como pelo comprometimento da qualidade do leite produzido (RIBEIRO et al, 2003). Ainda devem-se considerar os aspectos de saúde pública, pois conforme Fetrow et al. (1991) e Miller et al. (1993), citado por Langoni (2013) muitos patógenos causadores de mastite oferecem risco ao consumidor de leite e derivados.

Comumente de caráter infeccioso, pode ser classificada como clínica ou subclínica, sendo causada principalmente por agentes bacterianos. O *S. aureus* é o agente mais conhecido causador de várias doenças tanto em humanos como em animais, além de estar envolvido em surtos de intoxicação alimentar (BERGDOLL, 1989).

A invasão da glândula mamária por microrganismo é acompanhada de um aumento do número de leucócitos no leite, essas células fazem parte dos mecanismos naturais de defesa do animal. Os leucócitos migram da circulação sanguínea para a glândula mamária e são denominadas de células somáticas, que tem sido amplamente utilizada como uma indicação de mastite (BHUTTO et al., 2012). Os métodos de diagnóstico da mastite subclínica incluem exames microbiológicos, métodos químicos indiretos e a contagem de célula somática (CCS) do leite (BRITO et al., 1997). O *California Mastitis Test* (CMT) é um teste de diagnóstico amplamente utilizado para mastite subclínica, sendo simples, barato e utilizado como teste de triagem rápida (SCHITANDI & KIHUMBU, 2004) e ainda conta com a vantagem de ser realizado no momento em que os animais estão sendo ordenhados (BRITO et al, 1997).

Sendo a mastite de alta ocorrência e grande impacto no Brasil, o objetivo deste trabalho foi de avaliar os dados de mastite subclínica e clínica em um rebanho comercial durante 13 semanas e determinar a relação entre o isolamento bacteriano do leite com os dados de mastite subclínica das vacas em lactação.

### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta de leite foi realizada em uma unidade de produção leiteira comercial com duração de 13 semanas. O número de animais em ordenha teve variação de 64

a 73 vacas, em diferentes períodos de lactação, totalizando 95 animais diferentes. Os animais eram das raças Jersey e Holandesa, criados no sistema semi-intensivo com pastoreio e suplementação. A ordenha era mecanizada realizada duas vezes por dia, com cinco conjuntos de ordenhadeiras.

A anti-sepsia dos tetos era feita conforme a rotina convencional. Primeiro era feita a lavagem dos tetos com água corrente e secagem com papel toalha, em seguida era aplicado o pré-dipping e secagem dos tetos com papel toalha. Para a identificação microbiológica eram coletados neste momento amostras individuais de leite (5mL) de cada quarto mamário dos animais em ordenha. A assepsia dos tetos era feita com algodão em álcool 70° g/L, e o leite armazenado em tubos de ensaios esterilizados, devidamente identificados, acondicionados em caixa isotérmica com gelo reciclável. Logo após as coletas das amostras de leite a ordenha era realizada normalmente. Após a ordenha era aplicado o pós-dipping. Foram coletados durante cada semana dados referentes à mastite clínica e subclínica através da realização de teste da caneca de fundo escuro e o CMT.

As amostras de leite coletadas eram remetidas sob refrigeração ao Laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), sendo semeadas em placas de Petri contendo Ágar sangue desfibrinado de ovino a 5% e incubadas a 37°C. As leituras foram realizadas em 24 e 48 horas, sendo observadas as características culturais das colônias (morfologia, produção de pigmento e hemólise) e morfo-tintoriais, através da coloração de Gram.

As análises dos resultados foram realizadas através da avaliação descritiva considerando a prevalência da ocorrência da mastite clínica e subclínica (CMT e isolamento bacteriano), e avaliação analítica relacionando os dados – isolados bacterianos com escores de CMT pelo teste de Kruskal-Wallis utilizando o programa estatístico Statistix 9.0<sup>®</sup>, casos de mastite clínica com isolados bacterianos, CMT positivo e isolamento bacteriano, empregando o teste do qui-quadrado com o Software Epi Info 7.0<sup>®</sup>.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No exame microbiológico do leite das 3522 amostras de leite analisadas, 1099 (31,2%) apresentaram resultado negativo para o crescimento microbiano. Os microrganismos que obtiveram maior crescimento foram *Corynebacterium* spp., em 1216 (34,52%) amostras, e 323 (9,17%) *Streptococcus* spp.. Os restantes dos microrganismos isolados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Microrganismos isolados de amostras de leite individual de cada quarto mamário analisado durante as 13 semanas.

Microrganismos isolados	n	%
Sem crescimento	1099	31,20
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase positiva (SCP)	342	9,71
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativa (SCN)	332	9,42
<i>Staphylococcus</i> spp.	10	0,28
<i>Streptococcus</i> spp.	323	9,17
<i>Corynebacterium</i> spp.	1216	34,52
<i>Bacillus</i> spp.	2	0,056
Proteus	1	0,028
Gram negativo	1	0,028
SCP + SCN	22	0,62
SCP + <i>Streptococcus</i> spp.	25	0,70
SCN + <i>Streptococcus</i> spp.	38	1,08
SCP + <i>Corynebacterium</i> spp.	25	0,71
SCN + <i>Corynebacterium</i> spp.	54	1,53
<i>Streptococcus</i> spp. + <i>Corynebacterium</i> spp.	8	0,22
Poliflora	24	0,68
TOTAL	3522	100

Os resultados indicam que o diagnóstico de mastite subclínica, baseado nos resultados de CMT, podem ser devido a presença de bactérias causadoras de infecções no úbere, como pode ser observado na Tabela 2. As bactérias contagiosas *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e *Streptococcus* spp. apresentaram os maiores índices de CMT positivo em relação ao controle sem crescimento, quando comparadas com o grupo sem crescimento.

Tabela 2: Comparação do crescimento dos principais microrganismos relacionados a mastite bovina com a média de *California Mastitis Test* (CMT) positivo.

Microrganismo	Média de CMT	CMT +	CMT -	OR	IC
Sem crescimento	1,88 a*	284	813		
SCP	3,58 d	244	98	7,13	5,44- 9,84
SCN	3,08 c	195	133	4,2	3,24- 5,44
<i>Streptococcus</i> spp.	4,00 d	263	60	12,55	9,19-17,13
<i>Corynebacterium</i> spp.	2,44 b	510	706	2,07	1,73- 2,47

SCP (*Staphylococcus* spp. coagulase positivos), SCN (*Staphylococcus* spp. coagulase negativa). Letras iguais significam que não houve diferença estatística entre os resultados no nível de significância de 95%.

Foi observada uma maior probabilidade de ocorrer mastite clínica por *Streptococcus* spp. do que outros microrganismos relacionados ao isolamento microbiológico do leite analisado, conforme o que mostra a Tabela 3. Casos de mastite clínica relacionados aos microrganismos *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e *Corynebacterium* spp. obtiveram menores chances de ocorrência.

Tabela 3: Relação entre o crescimento dos principais microrganismos relacionados a mastite bovina com teste da caneca de fundo escuro (CFE) como indicativo de mastite clínica.

Microrganismo	CFE			OR	IC
	Pos	Neg	Total		
Sem crescimento	8	1085	1093		
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase +	2	340	342	0,8	0,17-3,78
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase -	3	327	330	1,24	0,32-4,72
<i>Streptococcus</i> spp.	18	305	323	8	3,45-18,59
<i>Corynebacterium</i> spp.	8	1208	1216	0,9	0,34-2,40
Total	39	3265	3304		

OR (Odds-ratio).

Pode ser observado nas Tabelas 2 e 3 que uma parte das amostras positivas para o teste de CMT e CFE não apresentaram crescimento de microrganismos.

As bactérias identificadas neste estudo são importantes na etiologia da mastite bovina, conforme dados citados por outros autores (FREITAS et al., 2005; FREITAS et al., 2009; NOBREGA e LANGONI, 2011). Da mesma forma, como já descritos em estudos anteriores, como o de Bhutto et al. (2012), há uma maior chance de ser obter um resultado positivo ao teste do CMT com isolamento de patógenos contagiosos.

Observou-se uma maior probabilidade de ocorrer mastite clínica por *Streptococcus* spp. do que os outros microrganismos relacionados ao isolamento microbiológico do leite analisado, o que está de acordo com trabalhos onde encontraram casos de mastite clínica relacionados a agentes contagiosos (RIBEIRO et al., 2009). A diversidade de agentes etiológicos isolados nos casos de mastite clínica e subclínica também foi observada por outros autores (FREITAS et al., 2005, LANGONI et al., 2011), assim como obtiveram maior prevalência de *Corynebacterium* spp. nas amostras de leite analisados (LANGONI et al., 2011).

Em relação ao manejo realizado na propriedade, o mesmo não foi considerado adequado, havendo carência de limpeza na sala de ordenha. A ordenha era mecanizada, o que justifica o isolamento de agentes ambientais nas amostras em associação com agentes contagiosos. O tempo de duração das infecções nas vacas é um ponto importante que deve ser avaliado, conforme Oliveira et al. (2012)

pois quanto mais rápido o caso de mastite for eliminado, maior chance de sucesso terá o programa de controle.

## 5. CONCLUSÃO

Neste estudo pode observar a relação entre os isolados microbiológicos do leite com os casos de mastite subclínica e clínica, corroborando a importância da realização de testes de triagem para determinar a sanidade do leite em uma unidade produtora de leite.

## REFERÊNCIAS

- BHUTTO, A.L.; MURRAY, R.D. & WOLDEHIWET. Z. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v.92, p.13-7, 2012.
- BERGDOLL, M.S. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE, M.P. (Ed.). **Foodborne bacterial pathogens**. New York: Marcell Dekker, 1989, p.463-523.
- BRITO, J.R.F.; CALDEIRA, G.A.V.; VERNEQUE, R.S. et al. Sensibilidade e especificidade do "California Mastitis Test" como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.2, p.49-53, 1997.
- FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W., STAMFORD, T. L. M., et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.171-177, abr./jun., 2005.
- FREITAS, J. A., PEDROSO, S. C. S., BARROSO, et al. Ocorrência de mastite em rebanhos leiteiros bovinos e bubalinos no estado do Pará. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, n.52, p.189-194, jul./dez., 2009.
- LANGONI, H. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.5, p.620-626, 2013.
- NOBREGA, D. B., LANGONI, H. Breed and season influence on Milk quality parameters and in mastitis occurrence. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.12, p.1045-1052, dezembro 2011.
- OLIVEIRA, C.M.C.; SOUZA, M.G.S.; SILVA, N.S.; et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, p.104-110, 2011.
- RIBEIRO, M. E. R, PETRINI, L. A, AITA, M. F. et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.3, p.287-290, jul./set., 2003.
- RIBEIRO, M. G., GERALDO, J. S., LANGONI, H. et al. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite produzidos no sistema orgânico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p.52-58, 2009.
- SHITANDI, A. & KIHUMBU, G. Assessment of the California mastitis test usage in smallholder dairy herds and risk of violative antimicrobial residues. **Journal of Veterinary Science**, v.5, p.5-9, 2004.