

Prevalência e etiologia da mastite subclínica na região sul fluminense

Prevalence and etiology of subclinical mastitis in south of Rio de Janeiro State, Brazil

Bruno Gomes de Castro^[a], Miliane Moreira Soares de Souza^[b], Avelino José Bittencourt^[c]

^[a] Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), câmpus universitário de Sinop, Instituto de Ciências da Saúde, Sinop, MT - Brasil, e-mail: castrobg@ufmt.br

^[b] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Veterinária, Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária Seropédica, RJ - Brasil, e-mail: miliane@ufrj.br

^[c] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Seropédica, RJ - Brasil, e-mail: bittenc@ufrj.br

Resumo

A mastite subclínica é uma das enfermidades mais prevalentes dos rebanhos bovinos leiteiros, causando grandes prejuízos econômicos pela diminuição da produção de leite, perda da qualidade do leite, e até mesmo a morte do animal. Este estudo teve como objetivo avaliar a prevalência da mastite subclínica em municípios da região sul do estado do Rio de Janeiro, bem como a etiologia da enfermidade e a resistência antimicrobiana das espécies identificadas. De acordo com os resultados obtidos, a prevalência da mastite nas propriedades visitadas foi de 20,63%; a espécie *Staphylococcus aureus* foi o agente mais frequente nos casos diagnosticados e a ampicilina foi o antibiótico que apresentou menor sensibilidade aos agentes isolados.

Palavras-chave: Mastite subclínica. Epidemiologia. Etiologia bacteriana. Antibiograma.

Abstract

The summer mastitis is one of the most prevalent diseases of dairy cattle, causing economic loss by lowering the production rate, poor milk quality and even by animal death. This study evaluated the prevalence of the subclinical mastitis in the dairy herd from the south region of Rio de Janeiro State, Brazil, as well as the etiology and antibiotic sensibility profile of the samples. According to the results, the prevalence of the disease in the visited dairy farms achieved 20.63%; Staphylococcus aureus was the most frequent isolated strain and ampicillin was the antibiotic with the worst performance.

Keywords: Subclinical mastitis. Epidemiology. Bacterial etiology. Antibiotic susceptibility test.



Introdução

A mastite bovina é considerada a doença que acarreta os maiores prejuízos econômicos à produção leiteira, pela redução da quantidade e pelo comprometimento da qualidade do leite produzido, ou até pela perda total da capacidade secretora da glândula mamária (SILVA, 2008). A maior parte dos casos de mastite se apresenta sem sinais físicos de processo inflamatório agudo, sendo crônicas ou incipientes, causando sérios prejuízos econômicos, apesar do aspecto aparentemente inofensivo. A mastite ocorre normalmente em resposta à infecção intramamária, principalmente bacteriana, podendo também ser causada por fungos, vírus ou algas (SILVA, 2008).

A mastite bovina possui etiologia diversa, e bactérias como o *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli* se destacam como agentes dessa enfermidade (FONSECA; SANTOS, 2000).

A mastite bovina é considerada a doença que acarreta os maiores prejuízos econômicos à produção leiteira, observando-se redução da quantidade produzida, alteração da qualidade do leite, podendo haver perda total da capacidade secretora do quarto mamário. Tal enfermidade é caracterizada por inflamação da glândula mamária e pode ser classificada como clínica ou subclínica. A mastite clínica apresenta sinais evidentes, tais como edema, aumento de temperatura, endurecimento, dor na glândula mamária, grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite (RIBEIRO et al., 2003).

No Brasil, segundo Brant e Figueiredo (1994), a mastite subclínica caracteriza-se pela alta incidência, com índices variando de 44,88% a 97,0%, e a redução da produção de leite situa-se entre 25,4% e 43,0%. Machado (2003) relatou que a prevalência de mastite subclínica nos rebanhos era de aproximadamente 40% e que as taxas de novas infecções e infecções crônicas eram de 22% e 68%, respectivamente. Os números mostram que os animais ficam infectados facilmente e que na sua grande maioria permanecem infectados, resultando em uma alta prevalência da doença.

Este estudo teve como objetivo avaliar a prevalência e a etiologia da mastite bacteriana bovina, bem como a sensibilidade antimicrobiana dos agentes identificados em pequenas propriedades rurais familiares da região sul do estado do Rio de Janeiro.

Materiais e métodos

Foram visitadas dez propriedades rurais nos municípios de Barra Mansa e Resende, localizados no sul do estado do Rio de Janeiro. O sul fluminense representa a mais importante bacia leiteira do estado. Foram selecionadas propriedades leiteiras com características produtivas similares, tais como criação semiextensiva, ordenha manual, dupla ordenha diária, padrão racial mestiço, alimentação a pasto e de característica de produção familiar. Em cada propriedade visitada foi verificada a presença da mastite clínica e subclínica bovina em todas as vacas em lactação, inicialmente por meio da avaliação clínica e do teste da caneca do fundo escuro para detecção de casos de mastite clínica, e posteriormente a realização do "California Mastitis Test" (CMT), utilizando-se metodologia adaptada de Fonseca e Santos (2000) para o diagnóstico da mastite subclínica.

Todas as amostras positivas diante dos mencionados testes foram coletadas individualmente dos referidos tetos após a limpeza com solução antisséptica e acondicionadas em frascos estéreis e encaminhadas imediatamente sob refrigeração ao Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. O leite dos tetos que não apresentaram alteração na avaliação clínica, no teste da caneca de fundo escuro, bem como no CMT, não foram coletados para análise.

No laboratório, as amostras foram incubadas por 8 horas e em seguida repicadas nos seguintes meios: Agar BHI, Agar MacConkey e Agar Manitol Vermelho de Fenol. Em seguida, as colônias foram observadas quanto a sua forma, cor, bordas, dentre outras características fenotípicas. Após a diferenciação inicial das colônias, estas foram submetidas às provas de identificação preliminar: Coloração de Gram, para observação das características morfológicas e tintoriais; teste de hidrólise ao KOH a 3%, para confirmação do Gram; e prova da catalase. Toda a etapa de identificação foi realizada de acordo com o gênero isolado, utilizando-se provas bioquímicas específicas como recomendado por Koneman et al. (2008).

Ao término do processo de isolamento e identificação foi avaliada a prevalência das espécies bacterianas causadoras da mastite bovina no leite coletados das vacas nas cinco propriedades rurais visitadas de cada município.

Todas as espécies isoladas nas amostras de leite oriundo de tetos positivos aos testes diagnósticos foram submetidas ao antibiograma, de acordo com as normas internacionais (CLSI, 2005). Foram empregados os seguintes antibióticos: Ampicilina (Amp, 10 mcg), Gentamicina (Gen, 10 mcg), Cloranfenicol (Clo, 30 mcg), Vancomicina (Van, 30 mcg), Norfloxacino (Nor, 10 mcg), Oxacilina (Oxa, 1 mcg), Amoxicilina associado com Ácido Clavulânico (Amc, 30 mcg) e Nitrofurantoína (Nit, 30 mcg). Para tanto, foram utilizadas as amostras padrões *S. aureus* ATCC 25923 e *S. aureus* ATCC 29213 para padronização do ensaio.

Resultados e discussão

Foram avaliadas, no total, 273 vacas em lactação nas dez propriedades visitadas, sendo verificado um total de 54 animais positivos ao CMT, em que os quartos mamários diagnosticados com mastite subclínica totalizavam 75 amostras positivas. Não foram verificados casos de mastite clínica. Em todas as amostras positivas ao CMT foi possível o isolamento de uma ou mais espécies bacterianas.

De acordo com os resultados obtidos, a mastite bovina foi observada em todas as propriedades visitadas, com taxa de infecção média de 20,63% (Tabela 1).

Quando os municípios foram avaliados separadamente, foi observado nas propriedades visitadas de Barra Mansa que 24,24% dos animais apresentavam mastite bacteriana bovina, enquanto que em Resende, 17,02% dos animais foram diagnosticados com a enfermidade. A taxa de infecção observada nos municípios está um pouco abaixo da verificada por Ribeiro et al. (2003) ao observarem 37,69% de vacas com mastite bacteriana em propriedades localizadas no sul do estado do Rio Grande do Sul. Ferreira et al. (2007), em Teresina (PI), verificaram 41,10% dos animais apresentando a enfermidade. Laranja e Machado (1994) relataram que em granjas leiteiras do estado de São Paulo foi observada uma taxa de 50,97% de animais com mastite bacteriana, enquanto que Martins et al. (2010) observaram uma prevalência de mastite de 85,2% em vacas leiteiras de Cuiabá. Nosso resultado possivelmente se deve ao fato de que nas propriedades visitadas os animais não seguem um padrão racial definido, ou seja, animais mestiços, que geralmente são mais rústicos e resistentes aos agentes causadores de mastite bacteriana bovina, fundamentando assim a menor prevalência nesses municípios (ALMEIDA et al., 2005).

De uma forma geral, verificou-se que os microrganismos mais frequentes, identificados a partir das amostras coletadas, pertenciam à família Micrococcaceae (68,48%), sendo mais frequentes *S. aureus* e as espécies do grupo dos *Staphylococcus*

Tabela 1 - Dados referentes à quantidade de animais em lactação, animais e quartos mamários positivos diante do "California Mastitis Test" (CMT) e a prevalência da mastite bovina com positividade para isolamento bacteriano nas propriedades visitadas da bacia leiteira sul fluminense

Propriedade	Vacas em Lactação (n)	Animais CMT +(n)	Quartos mamários CMT + (n)	Prevalência (%)
I	24	6	10	25,00
II	37	6	7	16,22
III	32	11	14	34,38
IV	24	5	7	20,83
V	15	3	4	20,00
VI	49	3	6	6,12
VII	12	3	4	25,00
VIII	21	2	3	9,52
IX	32	6	11	18,75
X	27	9	13	33,33

Fonte: Dados da pesquisa.

Coagulase Negativo (ECN). A segunda família mais verificada foi a Enterobacteriaceae (17,40%), em que a espécie mais observada foi *E. coli* (Tabela 2).

Os dados observados neste estudo coincidem com o observado por outros autores, a exemplo dos resultados verificados por Moraes et al. (2004), na mesma microrregião do presente estudo, em que as famílias Micrococcaceae e Enterobacteriaceae foram as mais frequentes, ao utilizarem metodologia similar a do presente levantamento epidemiológico. Em estudos realizados nos estados de Pernambuco e Piauí (BARBALHO; MOTA, 2001; FERREIRA et al. 2007), verificou-se que apesar da utilização de metodologia distinta, as espécies da família Micrococcaceae apresentaram maior frequência, sendo responsáveis pelo maior número de casos de mastite bovina nas propriedades visitadas.

Tabela 2 - Prevalência da microbiota bacteriana isolada das amostras coletadas de leite de vacas com mastite das dez propriedades rurais dos municípios de Barra Mansa e Resende (RJ)

Agente Etiológico	Amostras	
	n	%
<i>Staphylococcus aureus aureus</i>	28	30,43
<i>Estafilococo Coagulase Negativo</i>	25	27,17
<i>Escherichia coli</i>	14	15,22
<i>Streptococcus spp</i>	9	9,78
<i>Staphylococcus intermedius</i>	8	8,70
<i>Bacilo Gram Positivo</i>	3	3,26
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	2	2,17
<i>Pseudomonas spp</i>	1	1,09
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,09
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1,09
Total	92	100

Fonte: Dados da pesquisa.

No levantamento realizado por Barbalho e Mota (2001), as espécies do grupo dos *Staphylococcus coagulase positivo* (20,16%) foram as mais observadas, enquanto que Ferreira et al. (2007) verificaram *Staphylococcus spp.* em 74,60% dos casos no Piauí. Seus estudos apresentam resultados similares aos verificados no presente, assim como os de Zecconi e Hahn (2000) e Fagundes (2007), em que o agente

mais frequente foi o *S. aureus*, espécie do gênero *Staphylococcus*, que também é coagulase positiva.

Outro grupo da família Micrococcaceae, os *Estafilococos coagulase negativos* se destacaram como agentes etiológicos das mastites na região estudada, corroborando os resultados obtidos por Pardo et al. (1998), Costa et al. (1999) e Laffranchi et al. (2001).

No que se refere à frequência de *E. coli* como agente etiológico das mastites bacterianas bovinas, os resultados deste estudo se assemelham àqueles obtidos por Bexiga et al. (2005) e Ferreira et al. (2007), que observaram prevalências de 7,9% e 10,71%, respectivamente. No entanto, resultados de outros autores diferem do observado neste trabalho, em que Barbalho e Motta (2001) não identificaram nenhum caso de mastite em Pernambuco causado por *E. coli*. Por outro lado, Shpigel et al. (1998) relataram que 60% dos casos de mastite em Israel eram causados por *E. coli*, cuja elevada frequência pode estar relacionada à maior concentração de animais, decorrente do manejo adotado neste país, em que se utiliza principalmente o sistema de livre estabulação (*free stall*).

No presente estudo, foi verificada uma prevalência de apenas 9,78% de casos de mastite causados por espécies de *Streptococcus*. O resultado difere dos estudos de Bexiga et al. (2005) e de Bradley et al. (2007) ao observarem a prevalência de 31,5% e 23,5% de casos de mastite causados por espécies de *Streptococcus* em Portugal e no Reino Unido, respectivamente. Esse fato possivelmente ocorre graças às diferenças ecológicas nas regiões estudadas como também às características imunológicas nos rebanhos estudados, apesar das diferenças de metodologia no que se refere ao isolamento e características das propriedades amostradas.

Na comparação dos resultados verificados em cada município, observou-se que cinco espécies bacterianas apresentaram maior prevalência. No entanto, a microbiota bacteriana identificada nos referidos municípios apresenta diferença relacionada às espécies menos frequentes.

Dentre os agentes com menor prevalência identificados neste estudo, foram verificadas espécies que eventualmente são isoladas de casos de mastite em bovinos, como *Pseudomonas spp.* e alguns coliformes, que são agentes oportunistas e têm potencial de causar mastite, principalmente, em animais imunocomprometidos, como relatado por Barkema et al. (1998).

No que se refere aos escores do teste CMT verificados no presente estudo, foi verificado que a maioria dos quartos apresentou escore dois (++) no critério de julgamento de Fonseca e Santos (2000). Apesar de autores de outros estudos (LARANJA; MACHADO, 1994; BEXIGA et al., 1994; FERREIRA et al., 2007) utilizarem metodologia distinta da utilizada neste, eles também observaram predomínio de mastite subclínica de grau médio (++) , que favorece a disseminação e a identificação dessa enfermidade nos rebanhos, pois a produção leiteira não apresenta uma diminuição na produção de forma intensa, como verificado anteriormente.

Os quartos mamários mais afetados nos rebanhos estudados foram o anterior direito e o posterior esquerdo, sem, no entanto, ter sido observada grande diferença diante dos demais. Os resultados coincidem com aqueles citados por Souto (2006), que verificou distribuição uniforme de mastite em todos os quartos mamários.

De acordo com Bueno et al. (2002), o prejuízo com a diminuição da produção leiteira varia de acordo com o escore do teste CMT. Escores - ou + (negativo ou uma cruz) representam uma perda na produção em torno de 14%; o escore ++ (duas cruzes) perda de 22%; e o escore +++ (três cruzes) perda aproximada de 36% na produção diária de leite por vaca.

De acordo com os resultados verificados com o teste da sensibilidade antimicrobiana, os agentes identificados apresentaram maior resistência aos antibióticos ampicilina, gentamicina e cloranfenicol. Esses resultados provavelmente se devem ao fato dos antimicrobianos (ampicilina e gentamicina) serem utilizados durante longo tempo, sem critério da assistência técnica ou antibiograma prévio. Apesar de o cloranfenicol ser proibido de ser utilizado em animais, foi verificada alta resistência dos microrganismos isolados a este antimicrobiano nos testes de sensibilidade antimicrobiana, fato que merece mais atenção em próximos estudos.

Neste estudo foi possível verificar que a mastite bacteriana bovina é prevalente em pequenas propriedades rurais leiteiras da Microrregião do Vale do Paraíba Fluminense. Tal fato é preocupante, visto que nessa região se concentra a maior bacia leiteira do estado, que abastece de leite o estado do Rio de Janeiro.

Outro ponto a ser destacado foi a resistência antimicrobiana verificada nas espécies isoladas das amostras de leite. Na região estudada, constatou-se

que os produtores faziam o tratamento de forma equivocada, muitas vezes usando subdoses de antibióticos sem observar o tempo correto de administração para o tratamento das vacas. O fato poderia ser corrigido com assistência médico-veterinária.

Nas propriedades visitadas o apoio técnico era feito de forma precária, em que a maioria das propriedades não recebia assistência médico-veterinária constante, sendo assistida eventualmente pelos extensionistas da Emater-Rio. Uma melhor assistência técnica poderia orientar os produtores quanto ao correto manejo higiênico-sanitário nas propriedades, tratamento criterioso dos animais e retirada de substratos que favorecem o desenvolvimento de ecto e endo parasitos. Medidas como essas poderiam auxiliar os produtores no controle da mastite bovina, como também de outras enfermidades do rebanho, bem como no controle de parasitoses. Com essas medidas, a produtividade dos rebanhos, assim como a renda do produtor rural, aumentaria, estimulando a maior produção de alimentos seguros e de melhor qualidade à população de uma forma geral.

Conclusões

Conclui-se que a mastite subclínica está presente no rebanho bovino dos municípios de Barra Mansa e Resende, com índices de prevalência e aspectos de sua etiologia em conformidade com o observado em outros estudos.

Os resultados obtidos contribuem para o esclarecimento dos aspectos epidemiológicos dos patógenos em estudo e são importantes para subsidiar ações de monitoramento e controle dessas infecções no âmbito da economia e da saúde pública. Novos estudos devem ser realizados com o intuito de se compreender melhor a transmissão dos agentes etiológicos, bem como o monitoramento da resistência antimicrobiana das espécies identificadas.

Referências

ALMEIDA, L. A. B. et al. Tratamento de mastite clínica experimental por meio de ordenhas múltiplas em vacas leiteiras inoculadas com *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 1, p. 1-6, 2005.

- BARBALHO, T. C. F.; MOTA, R. A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, n. 2, p. 31-36, 2001.
- BARKEMA, H. W. et al. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 411-419, 1998.
- BEXIGA, R. et al. Mastites subclínicas bovinas na zona do Ribatejo-Oeste. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, p. 39-44, 2005.
- BRADLEY, A. J. et al. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. **The Veterinary Record**, v. 160, p. 253-258, 2007.
- BRANT, M. C.; FIGUEIREDO, J. B. Prevalência da mastite subclínica e perdas de produção em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, p. 595-606, 1994.
- BUENO, V. F. F. et al. Mastite bovina clínica subclínica, na região de Pirassununga, SP: Frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 47-52, 2002.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDART INSTITUTE – CLSI. **Document M100-S15**, CLSI, Wayne, 2005.
- COSTA, E. O. et al. Infecções intramamárias em novilhas primíparas no período pré ao pós-parto e sua importância no controle de mastite. **Napgama**, n. 1, p. 16-20, 1999.
- FAGUNDES, H. **Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* O157:H7 em rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo**. 2007. 104 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP, 2007.
- FERREIRA, J. L. et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 261-266, 2007.
- FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.
- KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico**. 6 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2008.
- LAFFRANCHI, A. et al. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1027-1032, 2001.
- LARANJA, L. F.; MACHADO, P. F. Ocorrência de mastite bovina em fazendas produtoras de leite B no Estado de São Paulo. **Scientia Agricola**, v. 51, p. 578-585, 1994.
- MACHADO, P. F. O panorama da qualidade na Região Sudeste – São Paulo. In: **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; EPAMIG/CT/ILCT, 2003.
- MARTINS, R. P. et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.
- MORAES, A. P. R. et al. Avaliação da capacidade de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) em carrear bactérias envolvidas nas etiologias das mastites de municípios do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 4, p. 143-149, 2004.
- PARDO, P. E. et al. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 18, n. 3-4, p. 115-118, 1998.
- RIBEIRO, M. E. R. 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, 2003.
- SILVA, M. A. **Utilização de PCR multiplex para o diagnóstico etiológico da mastite bovina**. 2008. 36 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais. 2008.
- SHPIGEL, N. Y. et al. Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in Israeli dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 35, p. 1-9, 1998.
- SOUTO, L. I. M. **Associação entre o índice de mastite em rebanhos leiteiros e a qualidade microbiológica do leite cru no Estado de São Paulo, Brasil**. 2006. 85 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, 2006.
- ZECCONI, A.; HAHN, G. ***Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk**. Bulletin of IDF, v. 345, p. 15-18, 2000.

Recebido: 30/07/2012

Received: 07/30/2012

Aprovado: 06/11/2012

Approved: 11/06/2012