

Levantamento dos agentes etiológicos da mastite bovina na região de Arapongas (PR)

Renata Bonini Pardo¹, Domingos José Sturion²; João Roberto Basile³
Antonio Francisco Chaves Neto⁴; Danilo Daniel da Silva Duarte⁵; Adrian Alaver Fernandes⁵;
Sérgio Yukio Yokosawa⁵; Rodrigo Campos Menck⁵; Cleyton Alves de Godoy⁵;
Alexandre Martins Farinazzo⁵; Evandro Menoli Panício⁶

Resumo

Foram submetidos a exames clínicos e ao *California Mastitis Test* (CMT) 1010 quartos mamários de vacas em diferentes estágios de lactação e as respectivas secreções lácteas. De cada quarto positivo para mastite clínica ou subclínica foi coletada amostra de leite para realização de exames microbiológicos em meios de ágar sangue (10%) e ágar MacConkey, no Laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária. O exame clínico da caneca de fundo escuro revelou mastite clínica em 23 (21,74%) dos quartos analisados, e o CMT evidenciou 209 (43,06%) casos de mastite subclínica, restando 778 (77,03%) normais. Das 232 amostras positivas ao exame microbiológico, 168 (38,97%) apresentaram isolamento de 177 microrganismos, em cultura pura e em associação, entre agentes bacterianos, fúngicos e algas unicelulares; e 16 evidenciaram problemas de contaminação durante a coleta. O gênero mais frequente foi *Staphylococcus* spp (95/177 = 53,67%), seguido do gênero *Streptococcus* spp, que foi observado em 21,74% (5/23) das amostras clínicas e em 11,48% (24/209) das subclínicas. *Actinomyces pyogenes* foi isolado em 4,35% (1/23) e em 3,83% (8/209) das mastites clínica e subclínica respectivamente. *Corynebacterium bovis* foi observado em 8,70% (2/23) das amostras clínicas e em 12,44% (26/209) das subclínicas. Fungos filamentosos foram isolados apenas de casos subclínicos 0,96% (2/209). *Candida* spp ocorreu em amostras clínicas (1/23 = 4,35%) e em subclínicas (10/209 = 4,78%). Algas do gênero *Prototheca* foram isoladas principalmente de mastite clínica (2/23 = 8,70%) e em menor número de subclínica (2/209 = 0,48%).

Palavras-chave: *California Mastitis Test*, mastite bovina, quarto mamário.

PARDOS, R. B.; STURION, D. J.; BASILE, J. R.; CHAVES NETO, A. F.; DUARTE, D. D. da S.; FERNANDES, A. A.; YOKOSAWA, S. Y.; MENCK, R. C.; GODOY, C. A. de; FARINAZZO, A. M.; PANÍCIO, E. M. Levantamento dos agentes etiológicos da mastite bovina na região de Arapongas (PR). *UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde*, Londrina, v. 1, n. 1, p. 25-30, out. 1999.

Introdução

A mastite bovina caracteriza-se por um processo inflamatório da glândula mamária, sendo considerada a principal doença que acomete os animais em lactação (Dood, 1983). É comumente observada em vacas leiteiras, respondendo por 38% de morbidade dentro de um rebanho: ao redor

¹Docente Assistente da Disciplina de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária (UNOPAR). Campus Universitário. Rod. PR 218, Km 01. Caixa Postal 560. CEP 86702-000. Arapongas, Paraná, Brasil.

²Docente da Disciplina de Cirurgia do Curso de Medicina Veterinária (UNOPAR).

³Docente da Disciplina de Reprodução Animal do Curso de Medicina Veterinária (UNOPAR).

⁴Médico Veterinário, Acadêmico do Curso de Especialização.

⁵Acadêmicos de Graduação do Curso de Medicina Veterinária (UNOPAR).

⁶Acadêmico de Graduação do Curso de Química Industrial (UNOPAR).

de 7% dos animais acometidos são descartados e 1% morre em consequência da infecção (Schalm *et al.*, 1971; Langoni *et al.*, 1984). Além de ser o maior problema sanitário relacionado à pecuária leiteira, também é responsável por grandes prejuízos econômicos decorrentes da diminuição da qualidade e da produção de leite, dos gastos com medicamentos, assistência veterinária e com a reposição de animais (Nonnecke & Harp, 1989; Costa, 1991). De acordo com Costa *et al.* (1995a) e Costa *et al.* (1995b), os índices de ocorrência de mastite subclínica no Brasil é da ordem de 72% e de 17,5% para mastite clínica, nos Estados de Minas Gerais e São Paulo.

Segundo Dood (1983), a mastite bovina pode ser classificada sob duas formas, clínica e subclínica, caracterizadas, respectivamente, pela presença e pela ausência de alterações visíveis das composições físico-química e bacteriológica do leite, bem como dos tecidos do quarto mamário afetado (MacDonald, 1979; Mackie, 1987; Wilson *et al.*, 1991).

Pelo fato de não desencadear reações inflamatórias extensas do tecido afetado, a mastite subclínica, além de ser a forma mais freqüente, proporciona os maiores prejuízos ao produtor e à indústria de laticínios, uma vez que causa “silenciosa” redução da capacidade de secreção láctea do quarto mamário afetado em níveis que variam de 11,4% a 45,5% (Philpot, 1984; Gonzalez *et al.*, 1988). O impacto econômico causado pela mastite subclínica no Brasil corresponde, em média, a US\$ 329,34/vaca/ano (Costa, 1998; Costa, *et al.*, 1998)

Pode ser causada por uma ampla variedade de microrganismos, sendo as bactérias os agentes de maior prevalência. Em função do reservatório primário desses patógenos, a mastite pode ser classificada em contagiosa ou ambiental, destacando-se a primeira causada particularmente por *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis* e *Actinomyces pyogenes*, que são responsáveis por cerca de 80% dos casos de mastite (Langoni *et al.*, 1998). Os principais agentes de meio ambiente incluem *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus faecium*, *Nocardia* spp e *Pseudomonas aeruginosa* (Guterbock, 1992; Cullor, 1993; Smith & Hogan, 1998). Tendo em vista a diversidade etiológica da mastite em diferentes regiões, estudamos a etiologia da mastite bovina em propriedades rurais de exploração leiteira, localizadas na região de Arapongas, norte do Estado do Paraná.

Materiais e Métodos

Um total de 1010 quartos mamários de 256 vacas em lactação foram submetidos ao exame clínico da glândula mamária e ao teste da caneca de fundo escuro para detecção de sinais de mastite clínica, assim como ao *California Mastitis Test*, segundo Schalm & Noorlander (1957), para diagnóstico da mastite subclínica.

Todos os resultados foram anotados em fichas protocolares adequadas e, de acordo com as reações positivas aos métodos de diagnóstico aplicados, foram colhidas amostras de aproximadamente 15 ml de leite para realização de exame microbiológico. Estas foram colhidas após cuidadosa lavagem, secagem com toalha de papel descartável e desinfecção do óstio do teto com álcool 70%, em frascos estéreis identificados, sendo imediatamente transportadas para o Laboratório de Doenças Infecciosas, sob temperatura de refrigeração, em que se procederam os cultivos microbiológicos para isolamento do agente causal. Realizou-se a semeadura de cada amostra em meio de ágar base enriquecido com 10% de sangue bovino e em ágar MacConkey, incubando-se as placas a 37°C por 72 horas, com observação do crescimento microbiano a cada 24 horas. A identificação dos gêneros foi realizada através de estudo morfológico das colônias, bem como de verificação, ao microscópio, das características tintoriais e da morfologia do agente corado pela técnica de Gram. A confirmação dos gêneros e determinação de espécies dependeu de provas bioquímicas empregadas conforme o National Mastitis Council (1987) e Quinn *et al.* (1994).

Resultados e Discussão

A comparação dos índices do presente estudo quanto à mastite clínica e à subclínica observados nos Estados de São Paulo e Minas Gerais por Costa *et al.* (1995a) e Costa *et al.* (1995b) comprova que a ocorrência de casos clínicos foi menor, enquanto que os de subclínicos ultrapassaram os 72% relatados, sendo superiores ainda aos de Corrientes, na Argentina (14,3%), fornecidos por Cipolini *et al.* (1996).

Os 232 quartos afetados por mastite pertenciam a 141 vacas (55,08%), uma frequência maior que a apresentada no artigo de Beloti *et al.* (1997) sobre casos de mastite em rebanhos na região norte do Estado do Paraná.

A porcentagem de amostras mastíticas microbiologicamente positivas no presente estudo (Tabela 1) foi maior que aquela observada por Adornes *et al.* (1995), que encontraram 51,5% de mastites de origem infecciosa no levantamento realizado no município de Rio Grande (RS). Da mesma forma, observou-se aqui uma incidência maior de casos infecciosos que no trabalho de Martins *et al.* (1995), de 55,48%.

Tabela 1: resultados das 232 amostras de mastite clínicas e subclínicas submetidas ao exame microbiológico.

RESULTADO MICROBIOLÓGICO	Nº	%
Positivo	184	79,31%
Amostras com isolamento de microrganismos	168	91,30%
Amostras com crescimento de contaminantes	16	8,70%
Negativo	48	20,69%
Total	232	100,00%

Dentre os 177 agentes isolados (Tabelas 2 e 3), o gênero mais freqüente foi *Staphylococcus* spp, tendo sido isolados em contagem maior que os relatos de Beloti *et al.* (1997), que encontraram 30,51% de agentes desse gênero em mastite subclínica nessa mesma região, sendo que destes apenas 12,94% eram causados por coagulase positivos.

Tabela 2: distribuição dos 177 microrganismos isolados, em cultura pura ou em associação, das 168 amostras de leite mastítico positivas ao exame microbiológico.

MICROORGANISMOS	ISOLAMENTOS	
	Nº	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	95	53,67%
estafilococos coagulase negativos	82	86,32%
estafilococos coagulase positivos	13	13,68%
<i>Streptococcus</i> spp. não hemolíticos	29	16,38%
<i>Corynebacterium bovis</i>	28	15,82%
<i>Candida</i> spp.	11	6,21%
<i>Actinomyces pyogenes</i>	9	5,08%
<i>Prototheca</i> spp	3	1,69%
Fungos filamentosos	2	1,13%
Total de microrganismos isolados	177	100,00%

Tabela 3: participação dos 177 microrganismos isolados no desenvolvimento dos 23 casos de mastite clínica e dos 209 de mastite subclínica, diagnosticados em 232 quartos em produção.

MICRORGANISMOS	ISOLAMENTOS			
	Mastite clínica (23 amostras)		Mastite subclínica (209 amostras)	
	Nº	%	Nº	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	5	21,74%	90	43,06%
estafilococos coagulase negativos	4	17,39%	12	5,74%
estafilococos coagulase positivos	1	4,35%	78	37,32%
<i>Streptococcus</i> spp. não hemolíticos	5	21,74%	24	11,48%
<i>Corynebacterium bovis</i>	2	8,70%	26	12,44%
<i>Candida</i> spp.	1	4,35%	10	4,78%
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1	4,35%	8	3,83%
<i>Prototheca</i> spp.	2	8,70%	1	0,48%
Fungos filamentosos	-	-	2	0,96%

Os estreptococos não hemolíticos foram isolados em números superiores aos de Adornes *et al.* (1995), que encontraram um total de 13,2% de amostras com esse agente em todos os casos clínicos e subclínicos em Rio Grande (RS). Comparando-se os isolamentos de mastite subclínica, tem-se que nossos achados quanto a estreptococos são inferiores aos 21,69% de Beloti *et al.* (1997).

O *Corynebacterium bovis* foi observado em um total acima do encontrado por Adornes *et al.* (1995) na região sul do país, porém inferior aos dados de Beloti *et al.* (1997), quando se comparam casos de mastite subclínica.

Candida spp não foi relatada por Adornes *et al.* (1995) no Rio Grande do Sul ou por Beloti *et al.* (1997) em seus casos de mastites subclínicas no Norte do Paraná, mas foi encontrada por Martins *et al.* (1995) numa quantidade reduzida (1,54%), inferior aos nossos achados.

Fungos filamentosos e algas do gênero *Prototheca* spp também não foram relatados nos trabalhos de Beloti *et al.* (1997), de Martins *et al.* (1995) ou de Adornes *et al.* (1995). No entanto, *Prototheca* spp, observada em 8,70% das amostras clínicas e em 0,48% das subclínicas de nosso estudo, foram isoladas numa incidência maior que a de Langoni (1996) para casos clínicos (7,45%), e menor para os subclínicos (2,40%).

Dos *Actinomyces pyogenes* isolados, uma porcentagem relativamente elevada esteve presente nos quadro subclínicos quando se considera mastite subclínica no trabalho de Beloti *et al.* (1997).

Referências Bibliográficas

- ADORNES, R.; ESTIMA, B.; LADEIRA, S.; MARTINS, L.; SANTIAGO, V. Mastite e Brucelose na Bacia Leiteira de Rio Grande, RS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1995, Santos. *Resumos...* Santos, 1995.
- BELOTI, V.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C.; METTIOFOGO, E. Estudo da mastite subclínica em rebanhos leiteiros do norte do Paraná. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v. 18, n. 1, p. 45-53, 1997.
- CIPOLINI, M. F.; JACOBO, R. A.; CICUTA DE CARVALHO, M. E.; PESSOA, S.; PASTORI, Y. S. Prevalencia de mastitis bovina en el nordeste de la provincia de Corrientes, Argentina. In: CONGRESO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 1996, Campo Grande, 1996. *Resumos...* Campo Grande, 1996.

- COSTA, E. O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. *Comunicado Científico Fac. Med. Vet. Zootec. Universidade de São Paulo*, v. 1, p. 21-6, 1991.
- COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. *Educação Continuada*, v. 1, n. 1, p. 3-9, 1998.
- COSTA, E. O.; BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; PARDO, R. B.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 17, n. 4, p. 156-8, 1995 a.
- COSTA, E. O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T.; WHITE, C. R.; PARDO, R. B. Índices de mastites bovina clínica e subclínica nos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 17, n. 5, p. 215-7, 1995 b.
- COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T.; SILVA, J. A. B.; GARINO JR, F.; BENITES, N. R.; HORIUTI, A. M. Costs of subclinical mastitis and their prevention in dairy herds. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CONTROL DE MASTITES E CALIDADE DE LA LECHE, 1998, Mérida, México. *Memórias...* Mérida, 1998.
- CULLOR, J. S. The control, treatment and prevention of the various types of bovine mastitis. *Vet. Med. Food. Animal Practice*, p. 571-579, 1993.
- DOOD, F. H. Mastitis progress on control. *J. Dairy Sci.*, v. 66, p. 1773-80, 1983.
- GONZALES, R. N.; JASPER, D. E.; FARVER, T. B. Prevalence of udder infections and masties in 50 California dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 193, n. 3, p. 323-8, 1988.
- GUTERBOCK, W. M. Reducing antibiotic use intere tratament of clinical mastitis. In: SYMPOSIUM ON ANTIBIOTIC RESIDUES. *Proceedings...* 1992. p. 1229.
- LANGONI, H.; CORREA, C. N. M.; CORREA, W. M. Etiologia e tratamento das mastites bovinas auxílio do Dimestilsulfoxido. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 4, n. 1, p. 1-4, 1984.
- LANGONI, H.; DA SILVA, A. V.; CABRAL, K. G.; DOMINGUES, P. F. Ethyologic aspects of bovine mastitis: aerobics bacterial flora. In: CONGRESO PANAMERICANO DE CONTROL DE MASTITIS E CALIDAD DE LA LECHE, 1998, Mérida, México. *Memórias...* Mérida, 1998.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P. F.; KUNG, D. C.; PARDO, R. B., DA SILVA, A. V.; CABRAL, K. G.; ROSA, C. Participation of yeasts, algae and fungi on bovine mastitis. In: CONGRESO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 1996, Campo Grande, 1996. *Resumos...* Campo Grande, 1996.
- LANGONI, H.; PARDO, R. B.; KUNG, D. C.; DA SILVA, A. V.; DOMINGUES, P. F.; LISTONI, F. J. P. Aerobic bacterial flora in bovine mastitis. In: CONGRESO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 1996, Campo Grande, 1996. *Resumos...* Campo Grande, 1996.
- MACDONALD, J. S. Bovine mastitis: introductory remarks. *J. Dairy Sci.* v. 62, p. 117-8, 1979.
- MARTINS, L.; CARDOSO, C. M.; SANTIAGO, V.; LADEIRA, S. Agentes causadores de mastite em bovinos no sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1995, Santos. *Resumos...* Santos, 1995. p. 129.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. *Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis*. Arligton : W. D. Hoard, Sons Co., 1987. 208p.
- NONNECKE, B. J.; HARP, J. Function and regulation of bovine mastitis. *J. Dairy Sci.*, v. 72, p. 1313-7, 1989.
- PHILPOT, W. N. Economics of mastitis control. *Vet. Clin. North Am. Larg. An. Pract.*, v. 6, p. 233-5, 1984.
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. *Clinical Veterinary Microbiology*. London:Wolfe. 1994.
- SCHALM, O. W.; CARROL, E. J.; JAIN, N. C. *Bovine Mastitis*. Philadelphia : Lea & Febriger, 1971. 360 p.

- SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. D. Experiments and observation leading to development of the California Mastitis. *Test. J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 130, p. 199-204, 1957.
- SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. Epidemiology of mastitis and physiopatology. In: CONGRESO PANAMERICANO DE CONTROL DE MASTITIS E CALIDAD DE LA LECHE, 1998, Mérida, México. *Memórias...* Mérida, 1998.
- WILSON, I. G.; COOPER, J. E.; GILMOUR, A. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in dried skimmed milk: use of the polymerase chain reaction for delection of *Sthaphylococcus enterotoxigenes* and the thermonuclease gene. *Appl. Eviron. Microbiol.*, v. 57, n. 6, p. 1793-8, 1991.

Survey of ethiological agents on bovine mastitis in Arapongas (PR) area

Abstract

A total of 1010 mammary quarters belonging to cows in different lactation stages and their respective milk secretion were submitted to clinical examinations and to *California Mastitis Test* (CMT). From each quarter presenting clinical or sub-clinical mastitis, a milk sample was collected and sent to the Infectious Diseases Laboratory of the Veterinary Medicine Course for microbiological tests in blood agar (10%) and in McConkey media. Clinical tests of milk secretion revealed clinical mastitis in 23 (21.74%) of all examined quarters, CMT showed 209 (43.06%) cases of sub-clinical mastitis, and the remaining 778 (77.03%) were normal. 168 (38.97%) out of 232 microbiological positive samples allowed the isolation of 177 microorganisms in pure and associated culture, including bacteria, fungi and unicellular algae; while 16 positive samples were contaminated during their collection. The most frequently isolated genus was *Staphylococcus* spp (95/177 = 53.67%), followed by *Streptococcus* spp, which was observed in 21.74% (5/23) of the clinical samples and in 11.48% (24/209) of the sub-clinical ones. *Actinomyces pyogenes* was recovered from 4.35% (1/23) and from 3.83% (8/209) of all clinical and sub-clinical cases, respectively. *Corynebacterium bovis* was observed in 8.07% (2/23) of the clinical samples and in 12.44% (26/209) of the sub-clinical ones. Filamentous fungi were isolated only in 0.96% (2/209)of the sub-clinical cases. *Candida* spp occurred in clinical (1/23 = 4.35%) and in sub-clinical (10/209 = 4.78%) samples. Algae from genus *Prototheca* spp were isolated mainly from clinical mastitis (2/23 = 8.70) rather than in sub-clinical mastitis (2/209 = 0.48%).

Key words: *California Mastitis Test*, bovine mastitis, mammary quarters.

PARDO, R. B.; STURION, D. J.; BASILE, J. R.; CHAVES NETO, A. F.; DUARTE, D. D. da S.; FERNANDES, A. A.; YOKOSAWA, S. Y.; MENCK, R. C.; GODOY, C. A. de; FARINAZZO, A. M.; PANÍCIO, E. M. Survey of ethiological agents on bovine mastitis in Arapongas (PR) area. *UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde*, Londrina, v. 1, n. 1, p.25-30, out. 1999.