

IDENTIFICAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE AGENTES CAUSADORES DE MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA EM VACAS DE UM REBANHO LEITEIRO LOCALIZADO NO MUNICÍPIO DE COROMANDEL/MINAS GERAIS - BRASIL

Walisson Douglas Alves Ferreira*

Juliana Januzi Roquette**

RESUMO

Entre as doenças que acometem o rebanho leiteiro, a mastite clínica e a mastite subclínica são consideradas as de maior ocorrência, sendo responsáveis por graves prejuízos econômicos, como o aumento da contagem de células somáticas (CCS), a diminuição da produção e até mesmo a perda dos tetos afetados. Com isso, objetivou-se estudar a frequência de agentes bacterianos envolvidos nesses processos inflamatórios clínicos e subclínicos da glândula mamária de vacas de um rebanho leiteiro, localizado em uma propriedade rural no município de Coromandel/MG. No trabalho foram acompanhadas 52 vacas em lactação, totalizando 71 quartos mamários infectados. Foi realizado o exame físico da glândula mamária e o teste da caneca telada para diagnosticar os casos de mastite clínica e *Califórnia Mastitis Test* (CMT) para identificar os casos de mastite subclínica. E na sequência foram colhidas amostras de leite dos quartos mamários afetados identificados para posterior exame microbiológico de identificação dos agentes. Observou-se a presença de bactérias isoladas e associação destas em casos clínicos e subclínicos da doença, destacou-se *Streptococcus agalactiae* como o microrganismo mais frequente.

Palavras-chave: Leite. Análise microbiológica. Bactérias.

ABSTRACT

Among the diseases which affects the dairy herd, the clinic mastitis and the subclinic mastitis are considered the most frequent, been responsible for serious economic losses as the increase counting of somatic cells, the decrease of production and even the lost of the affected ceilings. Thereat, is necessary to study the frequency of the bacterial agents involved in these clinic and subclinic inflammatory process on cow's mammary gland of a dairy herd, located in a rural property in Coromandel/MG. On the job, 52 cows in lactation was accompained, totaling 71 chests infected. The physical exam was done in the mammary gland and the test of canvas mug too, to diagnostic the cases of subclinic mastitis. Afterward, were harvested milk samples in the affected

*Graduando em Medicina Veterinária pela Faculdade Cidade de Coromandel (FCC).walissondouglas2019@gmail.com

** Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa, especialização em Pecuária Leiteira pela REHAgro, Mestre em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia, Docente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária pela FCC. jujanuzi@hotmail.com

chests identified to a later microbiological exam of identification from the agents. Was observed the presence of separate bacteria and association of these in clinic and subclinic cases of the disease, marked by *Streptococcus agalactiae* as the most frequent microorganism.

Keywords: Milk. Microbiological analysis. Bacteria.

1 INTRODUÇÃO

A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária, caracterizada por alterações físico-químicas, organolépticas do leite e celulares do parênquima mamário (RIBEIRO et al., 2016). A mastite também é responsável por gerar prejuízos consideráveis no setor econômico do país como: redução na produção, alteração na qualidade do leite, gastos com programas de controle e profilaxia, mão de obra e até mesmo perda de animais acometidos (EMBRAPA, 2018).

Essa doença faz parte dos problemas rotineiros de todos os produtores de leite, sendo seu estudo relevante para Coromandel MG já que a cidade ocupa o terceiro lugar entre os principais municípios produtores de leite de Minas Gerais. O estado de Minas Gerais está em primeiro lugar em relação à produção de leite. E em relação aos países produtores, o Brasil ocupou, no ano de 2018, a sexta posição no ranking mundial de produção de leite, produzindo 27.257.000 de litros (MINAS GERAIS, 2019).

A mastite pode ser classificada como contagiosa, quando os microrganismos são transmitidos de uma vaca para outra, por meio da mão do ordenhador ou por meio dos equipamentos de ordenha. E ambiental, quando microrganismos presentes no ambiente são responsáveis pela contaminação da glândula (RIBEIRO et al., 2016).

A mastite é considerada plurietiológica e multifatorial, tendo como principais agentes as bactérias *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Proteus spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp.* e *Staphylococcus coagulase negativos* (CUNHA et al., 2006).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são consideradas importantes causadoras da mastite bovina, e neste sentido, as bactérias consideradas

Staphylococcus coagulans negativus (SCN) como a *S. haemolyticus*, *S. warneri*, e *S. epidermidis* podem ser responsáveis por mastite clínica e também por mastite subclínica (BARREIROS, 2010). Alguns *Staphylococcus* são responsáveis por infecções da glândula mamária de longa duração, afetando a composição, a produção do leite, além de serem capazes de produzir enterotoxinas, substância responsável pela intoxicação de origem bacteriana no homem, sendo relatados em vários surtos de doenças transmissíveis por alimentos (LAMAITA et al., 2005).

Já os *Streptococcus* pertencem à família *Streptococaceae*, gênero *Streptococcus* e são cocos gram-positivos, geralmente dispostos aos pares ou em cadeias, anaeróbios facultativos ou estritos, catalase negativos (BIER, 1990). Três espécies são mais frequentemente identificadas como causadoras de mastite: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e o *Streptococcus uberis*, sendo o *Streptococcus agalactiae* o mais prevalente (FERNANDES, 1992).

Estes agentes induzem duas formas de apresentação da doença: a clínica, quando são evidentes os sinais da inflamação como a presença de grumos ou flocos no leite, detectados por teste como o da caneca de fundo preto, e a subclínica na qual o processo inflamatório necessita para seu diagnóstico de testes de campo como o *California Mastitis Test* (CMT) ou de laboratório como a contagem direta ou eletrônica de células somáticas (CCS) (RIBEIRO et al., 2002).

O CMT é um método indireto, que avalia a quantidade de células somáticas do leite, sob a ação de um detergente aniônico capaz de romper a membrana celular. Os ácidos nucleicos expostos interagem com o detergente, havendo a formação de um gel (ROSEMBERG, 1993). Os resultados são expressos em 4 escores dependendo da viscosidade do gel, sendo eles classificados como: um sinal negativo (-), um sinal positivo (+), dois (++) e três (+++) (BARREIROS, 2010).

Nesse contexto, o diagnóstico da doença somado à identificação do agente é primordial para o tratamento adequado da mastite e para correções no manejo dos animais. Porém, a prática de identificação dos microrganismos envolvidos não é realizada com frequência pelas propriedades produtoras de leite em Coromandel, MG, sendo que levantamentos que revelam microrganismos presentes na região são poucos ou inexistentes.

Logo, a identificação de algumas das bactérias que ocorrem no município seria enriquecedora para a tomada de decisão de produtores, já que amplia o conhecimento

dos mesmos sobre o assunto, com informações específicas sobre a região. Neste sentido objetivou-se demonstrar a frequência de agentes bacterianos envolvidos nos processos inflamatórios clínicos e subclínicos da glândula mamária de um rebanho de bovinos leiteiros localizado em uma propriedade rural no município de Coromandel MG.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram acompanhadas 52 vacas leiteiras da raça holandesa, em diferentes estágios de lactação, com uma produção média de 25 litros de leite/dia, em duas ordenhas realizadas em ordenhadeira mecânica. A fazenda utiliza sistema de produção semi-intensivo, no período de outubro a março e intensivo de abril a setembro, o que corresponde aos períodos de seca e chuvas, respectivamente.

Quando submetidos ao manejo intensivo os animais são dispostos em grandes piquetes próximos à ordenha, onde ficam confinados durante todo o período, com água e volumoso à vontade durante o dia todo. E quando estão em manejo semi-intensivo, realizam o ajuste na dieta e após os animais se alimentarem pela manhã e pela tarde após a ordenha, são liberados para que possam pastejar, em grandes pastagens.

A rotina diária dos animais começa às quatro horas da manhã, quando se inicia a primeira ordenha, com as vacas sendo conduzidas calmamente à sala de espera por funcionários, que na sequência realizam o posicionamento delas em linha de ordenha. Com os animais já organizados, os procedimentos na ordenha começam com o exame físico do úbere através de inspeção e palpação, depois o leite é submetido ao teste da caneca de fundo preto para identificação de mastite clínica, e na sequência realizam a limpeza dos tetos, que são imersos em solução pré *dipping* feita com água e hipoclorito de sódio (CUNHA et al., 2006). Essa etapa é concluída com o posicionamento das teteiras para a extração do leite.

No final da ordenha da vaca, as teteiras são extraídas e o teto é mergulhado em solução de iodo, com concentração de 12 a 14 ppm de iodo, para proteção da pele do animal. Na sequência as vacas são liberadas para irem para a pista de trato se alimentaram. Duas vezes por mês é realizado o CMT para a identificação de animais que apresentam mastite subclínica.

No mesmo dia em que o CMT foi realizado, foi conduzida a coleta de leite para a pesquisa, portanto foram colhidas amostras de leite dos quartos que apresentaram mastite subclínica ou clínica. As amostras de mastite subclínica foram coletadas quando o resultado do CMT era de 1+, 2+ ou 3+, além disso, o resultado do CMT foi utilizado para o estudo da frequência dos casos de mastite subclínica (RIBEIRO et al., 2016).

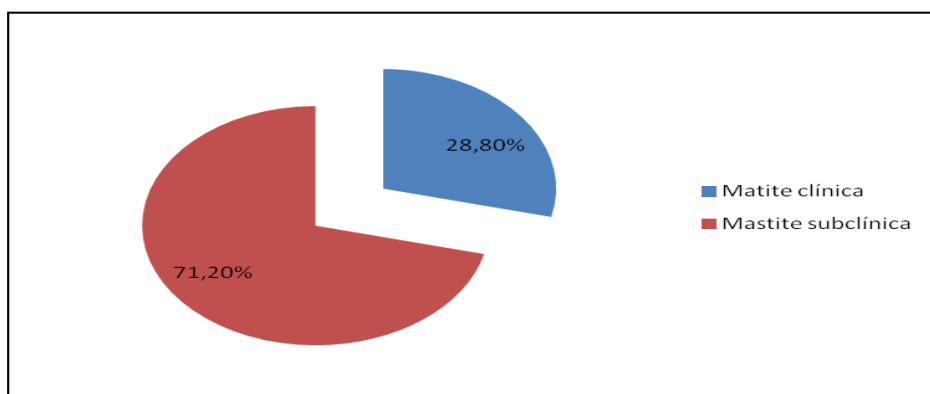
A coleta de leite iniciava-se após prévia antissepsia do óstio do teto com álcool a 70°GL, e com os tetos devidamente higienizados, o leite era obtido diretamente da teta do animal, por meio de ordenha manual, obtendo-se um volume de aproximadamente 10 ml de leite, em frascos coletores estéreis e devidamente identificados. As amostras de leite foram acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável e no final da ordenha essas caixas foram encaminhadas ao laboratório Clínica do Leite para realização das análises microbiológicas.

Em posse dos resultados microbiológicos das amostras de leite, foi realizada uma avaliação das bactérias identificadas por animal. Estes dados foram tabulados em planilha Microsoft Excel.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do exame inicial dos animais apontaram que entre os 52 animais estudados, 15 (28,8%) apresentaram mastite clínica, com 17 (28,3%) quartos mamários acometidos. E 37 (71,2%) animais apresentaram mastite subclínica, totalizando 54 (36,48%) quartos mamários afetados com graus variados (Figura 1).

Figura 1 - Distribuição: vacas em lactação que apresentaram mastite clínica e mastite subclínica



Resultados similares foram descritos por Martins et al. (2006) que relataram índice de 74,2% de mastite subclínica sendo afetado 44,3% do quarto mamário dos animais, diferindo de Ribeiro et al. (2002) que relataram apenas 37,69% de quartos mamários afetados com mastite subclínica, entretanto estes autores avaliaram sistema de produção diferentes.

Os resultados adquiridos através do teste do CMT para detectar mastite subclínica foram os seguintes: 14 animais com mastite subclínica de escores 1+, com a CCS acima de 200×10^3 CS/mL; 13 animais com mastite subclínica de escores 2+, com a CCS acima de 500×10^3 CS/mL; e 25 animais apresentaram mastite subclínica de escores 3+ (FIGURA 1), com a CCS acima de 1000×10^3 CS/mL (SANTOS; FONSECA, 2007).

A cultura microbiológica identificou bactérias de origem ambiental e de origem contagiosa, com frequências variadas (Tabela 1). É possível destacar que a bactéria *Streptococcus agalactiae*, foi a mais prevalente causadora da mastite, e ela pertence às bactérias de caráter contagioso que são encontradas principalmente no interior da glândula mamária. Elas são transmitidas durante a ordenha, e podem se alojar nas teteiras e nas mãos dos ordenhadores, causado assim a contaminação. Dessa forma ocorrem impactos negativos na qualidade do leite, devido à grande elevação da CCS (SANTOS; FONSECA, 2007).

Tabela 1 – Frequência dos agentes isolados do leite das vacas com mastite clínica e do leite das vacas com mastite subclínica.

Agentes isolados	Mastite clínica		Mastite subclínica	
	FA	FR (%)	FA	FR (%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	12	63	29	69
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3	16	3	7
<i>Streptococcus uberis</i>	2	11	3	7
<i>Staphylococcus warneri</i>	2	11	2	5
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	0	0	3	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	1	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	1	2
Total	19	100	42	100

Fonte: arquivo pessoal

Um estudo realizado por Martins et al. (2006) demonstrou que as principais bactérias causadoras de mastite clínica e subclínica são da espécie *Staphylococcus*

aureus. Entretanto, os resultados obtidos a partir da cultura do leite proveniente da fazenda localizada em Coromandel foram diferentes, a bactéria *Streptococcus agalactiae* foi a mais prevalente causadora da mastite subclínica (69%) e da clínica (63%).

Apesar dessa diferença observada anteriormente, as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* são caracterizadas como contagiosas e a mastite contagiosa apresenta-se principalmente na forma subclínica, e os casos subclínicos tem uma maior prevalência em relação à clínica (SANTOS; FONSECA, 2007) como foi observado nessa pesquisa em Coromandel, MG.

A bactéria *Streptococcus agalactiae* foi o principal microrganismo encontrado na cultura do leite produzido na fazenda acompanhada, por isso acredita-se que sua maior prevalência foi devido a falhas no manejo, tais como: a falta de linha de ordenha e procedimentos incorretos de limpeza da ordenhadeira. Já a baixa quantidade encontrada de *Staphylococcus aureus* (2%) pode ser explicada pelo usual descarte de animais com mastite crônica, dada ao grande número de animais de reposição produzidos anualmente pela propriedade.

A frequência da bactéria *streptococcus agactiae* pode ser reduzida mediante treinamento dos ordenhadores sobre a condução dos animais limpeza dos tetos, teste da caneca, posicionamento e extração das teteiras e limpeza da ordenha e tanque.

Nesta pesquisa, dentre as SCN a *S. haemolyticus* foi a mais prevalente, perfazendo 16% dos casos de mastite clínica e 7% de mastite subclínica. Diferindo dos achados de Santos et al. (2011) que descrevem que o *S. haemolyticus* foi responsável por apenas 5,8% dos casos de mastite clínica e subclínica somados, eles encontraram como mais frequente o *S. hyicus* (15,0%). Na presente pesquisa, os valores elevados do *S. haemolyticus*, são provavelmente resultados do manejo dos animais que soma ambiente inadequado à falta de procedimentos dos ordenhadores, que compartilham papéis usados para retirar sujidades dos tetos das vacas.

Quanto a relação do número de animais e quartos afetados por mastite subclínica observou-se que 26 (50%) animais apresentaram 1 quarto mamário infectado, 7 (13,5%) animais apresentaram 2 quartos mamários infectados, 2 (3,8 %) animais apresentaram 3 quartos mamários infectados, 2 (3,8%) animais apresentaram 4 quartos mamários infectados.

Ferreira et al. (2002) também relataram que a maioria das infecções ocorre em apenas um quarto da glândula mamária. Esse fato não possui uma explicação exata já que a chance de contaminação de todos os tetos é igual, mas falhas na limpeza dos tetos, utilização do mesmo papel contaminado em todos os tetos, ambiente de descanso inadequado, presença de hiperqueratose, podem elevar a chance de contaminação das glândulas e com isso o número de tetos contaminados, fatos que poderiam alterar esses resultados.

Em relação aos resultados de CCS, segundo (SANTOS; FONSECA, 2007) vacas que apresentam leite com a CCS acima de 200×10^3 CS/mL são considerados animais possivelmente infectados, e na pesquisa 14 (26,92%) animais apresentaram resultados inferiores a 200×10^3 CS/mL e 38 (73,07%) animais apresentaram resultado superior a esse valor de referência.

Segundo Coentrão et al. (2008), a principal causa de CCS acima de 200×10^3 CS/ML é a inexistência de programas de treinamento dos ordenhadores para a realização da ordenha e outros fatores como revisão de ordenha, que inclui por exemplo a troca de teteiras no tempo correto. A propriedade acompanhada demonstrou falhas bem parecidas com as citadas anteriormente, podendo estas justificarem o alto valor do CCS individual dos animais.

A contagem média de células somáticas das amostras de leite da propriedade foi acima de 3000×10^3 CS/ml, sendo que o valor mínimo registrado nas amostras foi de 250×10^3 CS/ml, e o máximo registrado foi de 9999×10^3 CS/ml. Diferente do que foi observado por Coentrão et al. (2008), que obtiveram valores da média da CCS individual de 608×10^3 CS/mL. Na propriedade acompanhada, o valor médio dos resultados de CCS individual foi elevado devido à grande quantidade de animais que apresentam mastite subclínica, aumentando assim a chance de contaminação dos demais animais em lactação.

Diante dos desafios observados, a propriedade acompanhada buscou corrigir as falhas, continuando com a realização de coletas frequentes de amostras de leite para análise de CCS individual e cultura microbiológica. E para a interpretação das análises e construção de planos de ação para a melhoria dos resultados, a fazenda conta com um médico veterinário especializado em qualidade do leite. Essa postura e procedimentos são indispensáveis para as empresas que buscam produzir leite com qualidade.

5 CONCLUSÃO

Foi possível revelar a frequência de agentes bacterianos envolvidos nas mastites clínicas e subclínicas que acometeram vacas produtoras de leite de um rebanho localizado no município de Coromandel/MG.

REFERÊNCIAS

BARREIROS, J. R. **Identificação de patógenos causadores de mastite por espectrometria de massas**. 2010. 93 v. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição e Produção Animal, Universidade de São Paulo, Pirassununga, jan. 2011. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-03082012-155228/publico/JULIANA_R_BARREIRO.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2019.

BIER, O. **Microbiologia e imunologia**. 24. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1990. Disponível em: <<http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/604/337>>. Acesso em: 03 mar 2019.

COENTRÃO, C. M. et al. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Niterói, v. 60, n. 2, p. 283-288, fev., 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v60n2/a01v60n2.pdf>> Acesso em: 07 abr. 2019.

CUNHA, A. P. et al. Perfil de Sensibilidade de Antimicrobiana de Agentes Contagiosos e Ambientais Isolados de Mastite Clínica e Subclínica de Búfalas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 01, p.17-21, mar. 2006. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V73_1/cunha.PDF>. Acesso em: 01 abr. 2019.

FERNANDES, J. C. T. Agentes etiológicos de mastite bovina no RS no período 1972-1989. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, v. 2, n. 20, p. 151-163, 1992. Disponível em <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/604/337>. Acesso em: 05 abr. 2019.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2018**, São Paulo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2018 Disponível em <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094149/anuario-leite-2018-indicadores-tendencias-e-oportunidades-para-quem-vive-no-setor-leiteiro>. Acesso em: 03 abr. 2019.

LAMAITA, H. C. et al. Staphylococcus sp. counting and detection of staphylococcal enterotoxins and toxic shock toxin syndrome from cooled raw milk. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 57, n. 5, p. 702-709, fev. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352005000500017>. Acesso em: 05 abr. 2019.

MARTINS, R. P. et al. Etiologia da mastite subclínica em vacas do rebanho de uma queijaria em Nossa Senhora do Livramento, MT. **Higiene Alimentar**, Mato Grosso, v. 20, n. 139, p. 104-409, mar. 2006. Disponível em <www.researchgate.net/publication/258286202_Etiologia_da_mastite_subclinica_em_vacas_do_rebanho_de_uma_queijaria_de_Nossa_Senhora_de_Livramento_MT> Acesso em: 03 abr. 2019.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Subsecretaria de Política e Economia Agrícola. **Bovinocultura, leite e corte**. Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <[http://www.reformaagraria.mg.gov.br/images/documentos/bovinocultura_leite_corte_mar_2019\[1\].pdf](http://www.reformaagraria.mg.gov.br/images/documentos/bovinocultura_leite_corte_mar_2019[1].pdf)>. Acesso em: 16 abr. 2019.

RIBEIRO, M. G. et al. Mastite em Animais Domésticos. In: MEGID, Jane et al. **Doenças infecciosas em animais de produção e companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 112. p. 1154-1205.

RIBEIRO, M. E. R. et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região do Sul no rio grande do sul. **Revista Brasileira Agrociência**, Rio Grande do Sul, v. 09, n. 03, p. 287-290, 08 ago. 2002. Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/606/617>>. Acesso em: 05 abr. 2019.

ROSEMBERGE, G. **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

SANTOS, L. L. et al. Dairy cattle with clinical and subclinical mastitis caused by coagulase negative Staphylococcus. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 1-7, mar. 2011. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552011000100001&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 02 maio 2019.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole; Pirassununga: Edição dos autores, 2007.