



ISOLAMENTO BACTERIANO EM CASOS DE MASTITE BOVINA NO NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ

Thais Akelli Sanchez Kovacs¹, José Maurício Gonçalves dos Santos², Victor Hugo Cortez Dias³, Márcia Aparecida Andreazzi⁴

¹Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, UNICESUMAR- Maringá-PR. Bolsista PIBIC/CNPq-UniCesumar

²Orientador e Docente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, UNICESUMAR

³Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, UNICESUMAR

⁴Coordenadora e Docente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária e do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR

RESUMO

Uma das principais causas de queda na qualidade do leite e de perdas econômicas é a mastite, a qual consiste na inflamação da glândula mamária, podendo ser causada por agentes infecciosos, traumáticos, fisiológicos, metabólicos, alérgicos e psicológica. Dessa forma, o presente trabalho diagnosticou casos de mastite em algumas propriedades no estado do Paraná, e sendo estes de caráter infeccioso, quais foram os agentes de maior ocorrência. Os resultados dos exames microbiológicos das amostras de leite provenientes de 19 propriedades do noroeste do Paraná demonstraram que a bactéria *Escherichia coli* foi isolada na maioria das propriedades representando 31,5% do total, seguida de *Streptococcus* sp (21,2%), *Staphylococcus aureus* (15,7%), *Candida* sp (5,3%), *Mycoplasma* sp (5,3%), *Staphylococcus* spp. coagulase negativa (5,3%) e 15,7% das propriedades não realizam exames microbiológicos quando diagnosticada a mastite, apenas iniciam os tratamentos com os antimicrobianos disponíveis no mercado.

PALAVRAS-CHAVE: bovinocultura; CMT; leite; manejo da ordenha.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a sexta posição na produção mundial de leite, produzindo 35 bilhões de litros em 2013, a qual foi significativamente maior do que se observamos o produzido em 2007, sendo 26 bilhões. Em relação ao consumo per capita anual brasileiro, ainda é deficiente, uma vez que a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a ingestão de 200 litros/ano/habitante, e o consumo real é de apenas 172,6 litros/ano/habitante (COOPEAVI, 2015).

De acordo com SILVA (2004) para que continue ocorrendo o crescimento da bovinocultura leiteira é essencial investir em nutrição, genética, manejo, bem estar animal e sanidade. Ressalta-se dentro do quesito sanidade animal a prevenção ou identificação de animais enfermos, conseqüentemente seu tratamento ou descarte (SILVA et al., 2004; ANDRADE et al., 2007).

Uma das mais prevalentes causas de queda na qualidade do leite, bem como de perdas econômicas significativas é a mastite. Essas perdas são tanto em nível de fazenda, pela diminuição na produção de leite, custo de mão-de-obra e honorários profissionais, medicamentos, morte ou descarte precoce de animais, como a nível de laticínios, pela queda na qualidade do produto final e na diminuição no rendimento industrial para fabricação dos seus derivados e pelas alterações na composição do leite mastítico. (COSTA, 1998; LANGONI, 1999; PRESTES et al., 2002; ANDRADE et al., 2007; TOZZETTI et al., 2008).



LANGONI (1999) ainda destaca a importância da mastite sob o ponto de vista de saúde pública, uma vez que, quando esta afecção é desencadeada por agentes infecciosos, existe alto risco de transmissão ao homem, a partir do leite contaminado, bem como, alguns agentes que podem resultar em toxemia grave.

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, produzindo danos ao epitélio glandular. Pode ser causada por agentes infecciosos, traumáticos, fisiológicos, observados no primeiro dia de lactação e na interrupção da lactação, metabólicos, alérgicos e até mesmo psicológica, observada em vacas zebuínas ou mestiças na retenção do leite na ausência do bezerro (BARBALHO et al., 2001; ALMEIDA et al., 2005).

Os principais agentes infecciosos são os cocos gram-positivos, bactérias gram-negativas, corinebactérias e *Actinomyces* spp, *Mycoplasma* spp e outros como *Nocardia* ssp, *Prototheca* ssp. e leveduras. Outros fatores como o manejo dos dejetos, estações do ano, estresse dos animais e as fases de lactação também podem estar relacionados com a ocorrência da mastite (COSTA, 1998; BARBALHO et al., 2001; ALMEIDA et al., 2005; FAGAN et al., 2008). A mastite pode se apresentar na forma clínica e subclínica da doença, sendo facilmente diagnosticada pelo teste da caneca de fundo preto e pelo *California Mastitis Test* (CMT), respectivamente (BARBALHO et al., 2001; FAGAN et al., 2008; PINTO, 2009).

Diante do exposto, devido à mastite ser uma enfermidade multifatorial, o objetivo desta pesquisa consiste em diagnosticar casos de mastite em algumas propriedades no estado do Paraná, e caso a etiologia seja de caráter infeccioso, quais são os agentes de maior ocorrência.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização desta pesquisa foram visitadas 19 propriedades rurais do noroeste do estado do Paraná, entre os meses de Outubro de 2015 e Junho de 2016. A composição do rebanho leiteiro era principalmente de gado holandês, mas em algumas propriedades também havia gado mestiço com holandês e Jersey, em diversas fases de lactação. Os sistemas de criação das propriedades variam desde o sistema *Freestall* até o sistema extensivo de criação.

Para realizar o diagnóstico de mastite os animais foram submetidos ao teste da caneca de fundo preto, utilizando os três primeiros jatos, sendo positivos os casos que apresentaram formação de grumos. Os animais também foram submetidos ao CMT, a qual os primeiros jatos de leite de cada quarto, de cada animal, foram descartados, com posterior higienização dos tetos por lavagem com água clorada e secagem com papel toalha. Após a desinfecção, foram coletadas 2 mL de leite de cada quarto e adicionados 2mL de reagente CMT agitando-os. Após agitação, os resultados foram interpretados.

Os animais que apresentaram resultado positivo, tanto no teste da caneca de fundo preto quanto no CMT, foram submetidos a coleta de uma amostra para a realização de cultura microbiológica, visando o isolamento e identificação de qual é o agente infeccioso. Além da cultura microbiológica, foi utilizado em algumas propriedades o serviço *TOPCheck*, a qual consiste em um programa de diagnóstico, através de uma técnica de diagnóstico PCR, permitindo identificar os agentes. A quantidade detectada do agente na amostra é demonstrada através de cruces, sendo POS + (DNA bacteriano foi detectado em pequenas quantidades), POS ++ (DNA bacteriana foi detectada em moderada quantidade) e POS +++ (DNA bacteriana foi detectada em alta quantidade). Este serviço é oferecido exclusivamente pela Hipra Saúde Animal Ltda.



Após obter todos os resultados das amostras das propriedades, foram realizadas regras de três para obter a porcentagem de cada agente isolado, bem como, definir qual o agente de maior prevalência entre as amostras.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados dos exames microbiológicos das amostras de leite provenientes de 19 propriedades do noroeste do Paraná demonstraram que a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*) foi isolada na maioria das propriedades representando 31,5% do total, seguida de *Streptococcus* sp (21,2%), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (15,7%), *Candida* sp (5,3%), *Mycoplasma* sp (5,3%), *Staphylococcus* coagulase negativa (5,3%) e 15,7% das propriedades não realizam exames microbiológicos quando diagnosticada a mastite, apenas iniciam os tratamentos com os antimicrobianos disponíveis no mercado.

Esses resultados são compatíveis com os citados por alguns autores como CASTRO et al. (2011), DIAS et al. (2011) e BLUM et al. (2014), a qual a *E. coli* consiste no principal agente causador da mastite em bovinos, ocasionando inúmeros prejuízos, tanto financeiros como na qualidade do rebanho, seja a curto ou a longo prazo.

RIBEIRO et al. (2006) descreve alguns fatores de virulência das *E. coli* que podem estar relacionados na incidência das mesmas em casos de mastite bovina, como por exemplo, lipopolissacarídeos (LPS), hemolisinas, fator necrosante citotóxico (CNF) e verotoxinas (VT), bem como, a resistência a antibióticos, colonização celular e a capacidade de adaptar-se a multiplicação em baixas concentrações de ferro.

Além disso, QUINN et al. (2005) destaca que a *E. coli*, os coliformes no geral, multiplicam-se rapidamente no leite e produzem toxinas que são absorvidas na corrente sanguínea, ao invés de se aderirem aos alvéolos no úbere, resultando em mastite aguda ou super aguda.

Contudo, alguns autores, como CASTRO et al. (2011) e LANGONI (2013) essa prevalência de *E. coli* está associada às precárias condições higiênico-sanitárias das fazendas, bem como da ausência de boas práticas de higiene durante a ordenha. Essa informação é compatível com este estudo, uma vez que as propriedades positivas para *E. coli* não apresentavam todas as boas práticas de higiene durante a ordenha como as propriedades positivas para *S. aureus* por exemplo.

Entretanto, os resultados obtidos nesta pesquisa divergem dos resultados obtidos por VIEIRA et al. (2013), a qual verificou presença de *Staphylococcus aureus* em 85% dos casos e *Staphylococcus* spp. coagulase negativa em 15% dos casos, durante sua pesquisa. Conforme também apresenta a pesquisa de FERREIRA et al. (2007) e FREITAS et al. (2009) contendo maior casuística de *Staphylococcus*.

De acordo com COSTA et al. (2013), embora ocorra uma diversidade entre os patógenos causadores da mastite bovina, os agentes *S. aureus*, *Streptococcus* sp e *E. coli* são responsáveis por cerca de 80% dos casos.

Do total de propriedades que apresentaram crescimento bacteriano, excluindo as propriedades que não realizam exames microbiológicos, foram observadas em 12,5% das propriedades pluralidade etiológicas, a qual é bastante conhecida, segundo estudo realizado por LANGONI (2013).

Contudo, em quatro amostras coletadas não houve crescimento bacteriano, após 48 horas de cultivo microbiológico. Esse fato pode ser explicado por diversos motivos, dentre eles, a eliminação espontânea da infecção, a baixa concentração e a localização intracelular de patógenos no leite, presença de fatores inibitórios no leite e mastite latente (VIEIRA et al. 2013).



4 CONCLUSÃO

Embora o *Staphylococcus aureus* seja apontado como o principal agente etiológico de mastites no Brasil e em outros países, o presente estudo evidenciou a *Escherichia coli* como o maior causador de mastite nos bovinos em propriedades rurais do noroeste do Paraná, destacando - se em primeiro lugar, seguida de *Streptococcus* sp, *Staphylococcus aureus*, *Candida* sp, *Mycoplasma* sp e *Staphylococcus* coagulase negativa.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.A.B.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PIRES, M.F.A.; BENITES, N.R.; Tratamento de mastite clínica experimental por meio de ordenhas múltiplas em vacas leiteiras inoculadas com *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, p.1-6, 2005.
- ANDRADE, L.M.; FARO, L.E.; CARDOSO, V.L.; ALBUQUERQUE, L.G.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F.; Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.343-349, 2007.
- 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, p. 31-36, 2001.
- BLUM, S.E.; HELLER, E.D.; LEITNER, G.; Long term effects of *Escherichia coli* mastitis. **The Veterinary Journal**, v. 201, p. 72–77, 2014.
- BRASIL, 2002. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 51 de de 18 de Setembro de 2002. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br>.
- CASTRO, B.G.; SOUZA, M.M.S.; RÉGUA-MANGIA, A.H.; BITTENCOURT, A.J.; Caracterização genotípica de amostras *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, p.515-517, 2011.
- COOPEAVI. **Produção de leite no Brasil em 2014: 37 bilhões de litros**. Disponível em http://www.coopeavi.coop.br/?noticias%2F0%2F615%2FProducao_de_leite_no_Brasil_em_2014_37_bilhoes_de_litros, acessado em 10/05/2015 às 14:30.
- COSTA, E.O.; Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v.1, p. 003-009, 1998.
- COSTA, G.M.; BARROS, R.A.; CUSTÓDIO, D.A.C.; PEREIRA, U.P.; FIGUEIREDO, D.J.; SILVA, N.; Resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.3, p. 297-302, 2013.



Dias, R.S.; **Isolamento, purificação e caracterização molecular de bacteriófagos específicos para *Escherichia coli* causadora de mastite bovina**. 63f. Dissertação (Magister Scientiae em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.

FAGAN, E.P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; JOBIM, C.C.; Avaliação de padrões físico-químicos e microbiológicos do leite em diferentes fases de lactação nas estações do ano em granjas leiteiras no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, p.651-660, 2008.

FERREIRA, J.L.; LINS, J.L.F.H.A.; CAVALCANT, T.V.; MACEDO, N.A.; BORJAS, A.R.; Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.2, p.261-266, 2007.

FREITAS, J. A.; PEDROSO, S. C. S.; BARROSO, R.; AGUIAR, R. V.; MONTEIRO, F. J. C.; Ocorrência de mastite em rebanhos leiteiros bovinos e bubalinos no estado do Pará. **Revista de Ciências Agrárias**, n. 52, p. 189-194, 2009.

LANGONI, H. Complexidade etiológica na mastite bovina. In: **ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES**, 999. Botucatu, SP. Anais...Botucatu, 1999, p.3-18.
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.

PINTO, T.R.; **Mastite: revisão**. 34f. Monografia (Especialista em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2009.
PRESTES, D.S.; FILAPPI, A.; CECIM, M.; Susceptibilidade á mastite: fatores que a influenciam. **Revista da FVZA**, Uruguaiana, v.9, p. 118-132, 2002.

QUINN, J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C.; **Microbiologia Veterinária e Doenças infecciosas**. Primeira edição. São Paulo:2005.

RIBEIRO, M.G.; COSTA, E.O.; LEITE, D.S.; LANGONI, H.; JUNIOR, F.G.; VICTÓRIA, C.; LISTONI, F.J.P.; Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.724-731, 2006.

SILVA, L.A.F.; SILVA, E.B.; SILVA, L.M.; TRINDADE, B.R.; SILVA, O.C.; ROMANI, A.F.; FIORAVANTI, M.C.S.; SOUSA, J.N.; FRANCO, L.G.; GARCIA, A.M.; Causas de descarte de fêmeas bovinas leiteiras adultas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.5, p.9-17, 2004.

TOZZETTI, D.S.; BATAIER, M.B.N.; ALMEIDA, L.R.; Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 10, p.1-7, 2008.

VIEIRA, B.C.R.; LORENZONI, L.S.; SOUZA, M.H.; ALFAIATE, M.B.; XAVIER, T.M.T.; Etiologia infecciosa associada à mastite subclínica em bovinos de propriedades rurais no município de Alegre-ES. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.16, p. 1155 -1172, 2013.