

# INCIDÊNCIA DA MASTITE BOVINA POR FASE DE LACTAÇÃO TENDO COMO AGENTE ETIOLÓGICO *staphylococcus sp* NA REGIÃO DE IMPERATRIZ –MA<sup>1</sup>

BELIN, M. C.<sup>2</sup>; GUIMARÃES SOUSA, R. L.<sup>3</sup>; DANTAS, M. DE O.<sup>4\*\*</sup>;  
ORLANDO.J.F.F.<sup>5</sup>; SOUSA NASCIMENTO R. F.<sup>6</sup>

## UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

- 1) Projeto executado com apoio da Fapema/UEMA/CESI
- 2) Bolsista de Iniciação Científica UEMA/CNPq
- 3) Pesquisador voluntário, acadêmico de Medicina Veterinária da UEMA-CESI.
- 4) Pesquisador da Fapema, prof.Orientador Dr.Fisiologia Médica  
[modantascq@uol.com.br](mailto:modantascq@uol.com.br) [escritorio\\_imperatriz@fapema.br](mailto:escritorio_imperatriz@fapema.br)
- 5) Prof. Assistente MSc Pesquisador do Departamento de Biologia da UEMA - CESI
- 6) Acadêmica bolsista do Departamento de Química da UEMA - CESI

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o estado sanitário da glândula mamária de vacas paridas, em produção leiteira e a predominância do microorganismo *staphylococcus sp* no leite. Utilizou-se leite de 196 tetos de vacas em diferentes lactações com média de produção de 18quilos de leite diários, os quais eram destinados a Indústria de laticínios. Inicialmente realizava-se exame de CMT (Califórnia Mastite Teste) ao pé da vaca e dos resultados positivos era realizada lavagem do úbere e recolhido amostra de leite em tubos de ensaio autoclavados e acondicionados em caixa isotérmica com gelo, e conduzidos ao laboratório de Microbiologia Animal da Universidade Estadual DO Maranhão. No ensaio microbiológico alíquotas de 1,0mL da amostra de leite foram transferido para tubos de ensaio e adicionado a tubos de ensaio contendo 9,0 ml do caldo de Brain Heart Infusion (BHI), para diluições seriadas até  $10^{-3}$ . Em seguida essas diluições eram levadas à estufa por 24 horas a 37°C. Após 24h de estufa, a diluição seriada  $10^{-3}$  do leite em BHI (1mL), era transferido para Placas de Petri contendo ágar específico para o crescimento de *staphylococcus sp* e incubadas 24h a 37°C para o crescimento de colônias. Os microorganismos isolados em ágar específico eram identificados por meio da coloração diferencial de Gram e produção de catalase, onde era realizado em lâmina, adicionando a uma colônia, 0,2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio) 3%. Os resultados obtidos mostraram que os microorganismos isolados foram identificado como *staphylococcus sp*, os que apresentaram morfologia típica de cocos Gram positivos, agrupados em cachos e produção de enzima catalase.

## INTRODUÇÃO

A mastite é a infecção mais freqüente dos animais destinados à produção de leite, e que mais onera a pecuária leiteira. As perdas econômicas são causadas tanto a honorários profissionais, medicamentos, morte ou descarte precoce de animais, como em nível de laticínios, pela queda na qualidade do produto final e diminuição no rendimento industrial para a fabricação dos seus derivados e pelas alterações na composição do leite mastítico (FONSECA E SANTOS 2000).

Sob o ponto de vista de saúde pública, deve-se considerar que quando esta afecção é desencadeada por agentes infecciosos, o que ocorre em sua grande maioria, existe alto risco de sua transmissão ao homem, a partir do leite contaminado. A mamite (do latim *mammae*) ou mastite (do grego *mastos*) bovina é uma doença de grande importância, sobre há qual muito se tem investigado. Identificar uma mama doente, na maioria dos casos não representa uma tarefa difícil, mas considerar um quarto efetivamente sadio ou em vias de apresentar alguma alteração ainda é discutível. Além disso, a maioria das mamites apresenta-se sem sinais físicos de processo inflamatório agudo, sendo crônicas ou incipientes e, apesar do aspecto inofensivo, causam sérios prejuízos econômicos e servem de fonte de infecção. Mastite normalmente ocorre em resposta a infecção intramamária, principalmente bacteriana, mas também micoplasmática, micótica (fúngica), ou infecções por algas. A maioria das mastites é causada por infecção bacteriana da glândula mamária (RIBEIRO *et al.*, 2001).

Segundo SEARS *et al.* (1993) a qualidade do leite está diretamente relacionada com saúde, alimentação e manejo dos animais, com a qualidade da mão-de-obra, manejo adequado dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha e transporte até a indústria. Todos esses fatores influenciam a sua composição original (proteína, gordura, etc.) e, as características de sabor, cheiro e viscosidade, certificando ou não a qualidade do produto RADOSTITS (2002).

A redução quantitativa e qualitativa do leite provocada pela mastite subclínica no quarto infectado, na vaca ou no rebanho, varia muito, dependendo de fatores ligados à natureza do(s) agente(s) etiológico(s), da resposta imunitária do animal, da evolução, duração da infecção e da propagação da mastite no rebanho. Estas condições ainda são influenciadas pelos cuidados e medidas sanitárias adotadas (BAREILLE *et al.*, 2003).

Segundo DINGWELL *et al.* (2004) a ordenha é uma prática aparentemente simples, mas de importância fundamental na exploração leiteira. A forma como se processa a ordenha influencia a qualidade do leite e o preço que a indústria de laticínios paga ao produtor.

A inflamação da glândula mamária, a qual freqüentemente tem origem bacteriana (PEELER *et al.*, 2003; SONDERGAARD *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2004), relatam que mais de 80 diferentes espécies de microorganismos foram identificadas como agentes causadores de mastite bovina, sendo que as espécies mais freqüentemente isoladas são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* (HOLTENIUS, 2004).

## **OBJETIVO**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade do leite “in natura” que era destinado ao consumo humano na cidade de Imperatriz - MA, e registrar nas diferentes lactações a probabilidade da infecção na glândula Mamária, nos quadros sub-clínicos, clínicos, agudas e crônicas em vacas paridas. Registrar através da lactocultura a predominância e incidência do microorganismo *Staphylococcus sp* presentes no leite e qual o antibiótico mais sensível para o mesmo através do **TSA** (Teste de Sensibilidade aos Antibióticos).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta da amostra**

As amostras foram coletadas e havendo resultado positivo para o CMT, o teto infectado era limpo com água e sabão, em seguida seco com papel toalha e uma posterior limpeza com solução de hipoclorito de sódio a 0.2%. As amostras de leite foram coletadas do respectivo teto em um tubo de ensaio autoclavado e acondicionado em caixa isotérmica contendo gelo e conduzido às dependências do laboratório de Microbiologia Animal da Universidade Estadual do Maranhão, para as análises.

Da amostra de leite era retirado 1,0 ml e adicionado a tubos de ensaio contendo 9,0 ml de Brain Heart Infusion (BHI), para diluições seriadas até  $10^{-3}$ . Em seguida essas diluições eram levadas à estufa por 24 horas a 37°C.

### **Isolamento e identificação de *Staphylococcus sp***

Após 24h de incubação, a diluição seriada  $10^{-3}$  do leite em BHI, era transferido para Placas de Petri contendo ágar específico para o crescimento de *staphylococcus sp*. Em seguida as placas foram conduzidas à estufa por 24 horas a 37°C para o crescimento de colônias.

Os microorganismos isolados em ágar específico foram identificados por meio da coloração diferencial de Gram e produção de catalase, que foi realizado em lâmina, adicionando a uma colônia, 0,2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio) 3%. Eram considerados como *Staphylococcus sp*, os isolados que apresentam morfologia típica de cocos Gram positivos, agrupados em cachos e produção de enzima catalase.

### **Semeadura em meio de Mueller-Hinton para TSA - Antibiograma**

A prova da sensibilidade das cepas de *staphylococcus sp* isoladas eram realizadas pelo método dos discos impregnados com antibióticos. Inicialmente as cepas eram semeadas em tubos contendo BHI e incubadas a 37°C durante 24 horas. Após a incubação, um Swab era umedecido no caldo cultivado e semeado em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton, esfregando-se o Swab em várias direções sobre o ágar para se obter uma distribuição uniforme das bactérias.

Depois, com auxílio de uma pinça, os discos<sup>1</sup> impregnados com antibióticos eram depositados e levemente pressionados sobre a superfície do meio inoculado na placa de Petri, mantendo-se, entre um disco e outro, à distância de, aproximadamente três centímetros. Os antibióticos utilizados no teste foram: Penicilina G (PEN 10), Clorafenicol (CLO 30), Cefalotina (CFL 30) e Amicacina (AMI 30).

As placas foram incubadas por 12 a 24 horas e, após, com uma régua, realiza-se a leitura dos halos de inibição, anotando-se o diâmetro em mm. Os resultados foram interpretados como resistente (R), sensibilidade intermediária (I) e sensível (S), de acordo com a tabela fornecida pelo fabricante dos discos de sensibilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 196 tetos analisados, 68 tiveram resultado positivo para mastite subclínica, cujo resultado foi dado em escores, que variaram de traços (leve formação de gel) a + (fracamente positivo), ++ (reação positiva) e +++ (reação fortemente positiva); 116 tetos negativos e 12 tetos suspeitos.

| <b>Positivos</b>            | +   | ++  | +++ |
|-----------------------------|-----|-----|-----|
| <b>Nº de tetos afetados</b> | 44  | 22  | 2   |
| <b>% de tetos afetados</b>  | 65% | 32% | 3%  |

Quadro 01: Relação de tetos positivos.

|                    | Positivos | Negativos | Suspeitos |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Nº de tetos</b> | 68        | 116       | 12        |
| <b>%</b>           | 35%       | 59%       | 6%        |

Quadro 02: Proporção de animais afetados

Os registros zootécnicos são precários na região, dificultando a pesquisa quanto à lactação dos animais, porém, a partir dos dados coletados podemos observar que a maior incidência de mastite ocorreu em animais de primeira lactação que deram resultados positivos no teste CMT, este resultado é devido à maior predisposição que as novilhas apresentam para infecções intramamárias no período pré-parto, prejudicando o crescimento do tecido secretor da glândula mamária, afetando negativamente a produção de leite futura e aumentando a ocorrência de casos clínicos de mastite.

---

<sup>1</sup> DME SENSIDISC

| Lactação      | 1   | 2   | 3  | 4  | 5  | 6  | 11 | 13 |
|---------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|
| Nº de animais | 13  | 9   | 3  | 3  | 3  | 1  | 1  | 1  |
| % de animais  | 38% | 26% | 9% | 9% | 9% | 3% | 3% | 3% |

Quadro. 03: Quantidade de animais afetados por fase de lactação

Os agentes mais frequentemente isolados do úbere destes animais foram às bactérias do gênero *staphylococcus sp*. Os *staphylococcus coagulase Negativos* fazem parte na microbiota normal da pele dos bovinos e podem ser facilmente isolados em novilhas. Os agentes que causam mastite em novilhas podem ter origem do próprio ambiente, do corpo dos animais e do leite proveniente de animais com mastite que é usado no aleitamento dos bezerros. Com relação ao teste de sensibilidade a antibióticos, avaliou-se a eficiência dos seguintes antibióticos como estratégia para o controle da mastite subclínica: Penicilina G (PEN 10), Cefalotina (CFL 30), Clorafenicol (CLO 30) e Amicacina (AMI 30). Entre esses antibióticos testados, o que se mostrou mais eficiente em 100% dos casos foi a Cefalotina, apresentando um halo de inibição bacteriana com média de 3,5 cm de diâmetro.

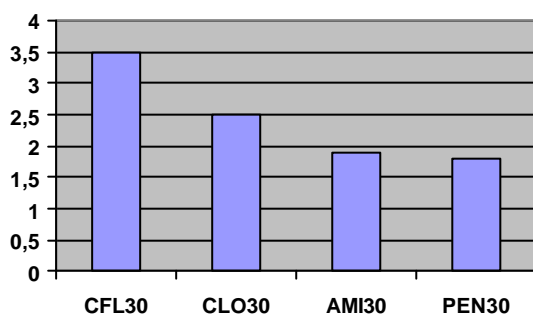


Fig 1: Eficácia dos antibióticos de acordo com média do halo de inibição do crescimento bacteriano (em cm)

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos com este trabalho, verificamos que a mastite é uma doença:

- Multifatorial, de grande importância para a pecuária leiteira e de ocorrência frequente na região de Imperatriz – Ma, devido a falhas no manejo dos animais;
- As bactérias do gênero *staphylococcus sp* ocuparam um papel de destaque na etiologia das infecções intramamárias do gado leiteira na região;
- Em função da metodologia adotada neste trabalho as novilhas apresentaram maior índice de contaminação da glândula mamária por *staphylococcus coagulase negativos*;
- Os antibióticos testados apresentaram maiores percentuais de sensibilidade ao princípio ativo Cefalotina, com um halo de inibição de 3,5 cm de diâmetro, seguido do Clorafenicol com um halo de inibição de 2,5 cm de diâmetro, a Amicacina com 1,9 cm de diâmetro e por fim a Penicilina G com um halo de inibição bacteriana apenas de 1,8 cm de diâmetro;

- A escolha do medicamento a ser utilizado no tratamento da mastite bovina causada por *staphylococcus sp*, torna-se imperiosa a necessidade do conhecimento do perfil de sensibilidade frente aos antibióticos e quimioterápicos das cepas isoladas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DINGWELL R.T., LESLIE K.E., SCHUKKEN Y.H., SARGEANT J.M., TIMMS L.L., DUFFIELD T.F., KEEFE G.P., KELTON D.F., LISSEMORE K.D. & CONKLIN J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. **Prev. Vet. Med.** 63:75-89 2004.
- BAREILLE N., BEAUDEAU F., BILLION S., ROBERT A. & FAVERDIN P.. Effects of health disorders on feed intake and milk production in dairy cows. **Livest. Prod. Sci.** 83:53-62. 2003.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.
- HOLTENIUS K., PERSSON WALLER K., ESSEN-GUSTAVSSON B., HOLTENIUS P. & HALLEN SANDGREN C. Metabolic parameters and blood leukocyte profiles in cows from herds with high or low mastitis incidence. **Vet. J.** 168:65-73. 2004.
- RADOSTITS, O. M., Blood D.C. & Gay, C.C. **Clínica Veterinária**. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1737 p. 2002.
- RIBEIRO et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na Região Sul ... 290 **R. Bras. Agrocência**, v. 9, n. 3, p.287-290, jul-set, 2003.
- SEARS, P. M.; GONZÁLEZ, R. N.; WILSON, D. J.; et al. Procedures for mastitis diagnosis and control. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, n.3, Nov.1993.