

ESTUDO DA INCIDÊNCIA DA MASTITE BOVINA NA BACIA LEITEIRA DO RIO DE JANEIRO¹

JEROME LANGENEGGER², NILTON MARTINS COELHO³, CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER³ e RAUL PIMENTA DE CASTRO⁴

Sinopse

Foram examinadas 2.187 vacas em lactação de 43 fazendas da bacia leiteira do Rio de Janeiro. O exame clínico dos úberes acusou mastites evoluídas, agudas ou crônicas, em 87 vacas (4%) com 101 quartos afetados. Em 141 vacas (7%) havia 167 "têtas secas". O "California mastitis test" revelou que 429 vacas (20%) apresentavam distúrbios da secreção láctea em 821 quartos.

Do leite destas 429 vacas (821 quartos) foram isolados: *Streptococcus agalactiae* em 106 animais (24,7%); *Streptococcus dysgalactiae* em 74 vacas (17,2%); *Streptococcus uberis* em 20 vacas (4,6%); *Staphylococcus aureus* em 227 vacas (53,1%); *Corynebacterium pyogenes* em 18 vacas (4,2%); *Pasteurella multocida* em 4 vacas (0,9%) e *Escherichia coli* em 2 vacas (0,4%).

Calculado sobre o total das 2.187 vacas examinadas, a incidência da mastite por *Str. agalactiae* seria 4,8%; *Str. dysgalactiae* 3,3%; *Str. uberis* 0,9%; *St. aureus* 10,3%; *C. pyogenes* 0,8%; *P. multocida* 0,2% e *E. coli* 0,1%; respectivamente.

Em 12 dos 43 rebanhos não foram diagnosticados casos de mastites. Em 11 rebanhos foi identificado apenas um único germe ao passo que nos demais rebanhos houve infecções causadas por 2 a 5 agentes etiológicos dentre os acima mencionados.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina se torna, também no Brasil, importante problema de patologia animal, à medida que se intensifica a exploração leiteira.

São poucos os levantamentos sistemáticos existentes sobre a mastite bovina no Brasil, o que não permite aquilatar-lhe a disseminação e avaliar a importância econômica que representa. O controle das mastites, em grande parte, vem sendo feito empiricamente por leigos. São tratadas apenas as infecções do úbere clinicamente evoluídas, com antibióticos de largo espectro, sem conhecer-se a etiologia. As grandes distâncias e o pequeno número de laboratórios de diagnóstico limitam ao mínimo o exame bacteriológico.

Revedo a literatura brasileira, verifica-se que são poucos os trabalhos publicados sobre mastite bovina, sendo realizados nos seguintes Estados:

¹ Recebido 18 ago. 1969, aceito 2 out. 1969.

Boletim Técnico n. 90 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS). Apresentado ao XII Congr. Bras. Med. Vet., Niterói, dezembro 1968. Realizado com ajuda financeira do Conselho Nacional de Pesquisas.

² Veterinário do Setor de Microbiologia do IPEACS, Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq 7115/68).

³ Veterinário do Setor de Microbiologia do IPEACS.

⁴ Veterinário da Equipe Técnica de Fisiopatologia da Reprodução e Inseminação Artificial (ETEFRIA), Av. Radial Oeste, 111, Maracanã, Rio de Janeiro, GB, ZC-29.

Estado de São Paulo

Reis (1930) se refere à ocorrência de mastite em várias áreas, fazendo comentários gerais sobre o assunto. Fêz ensaios sobre o diagnóstico etiológico.

Soares Filho (1945) examinou 201 amostras de leite de 160 vacas de duas fazendas nas quais diagnosticou a mastite estreptocócica. Em 44 casos isolou *Streptococcus agalactiae* e em 6 outros identificou a infecção por *Streptococcus uberis*.

Lacerda Jr. et al. (1954a), examinando 88 amostras de leite de vacas com mastite clínica, isolaram 22 estirpes de *Staphylococcus aureus*, 12 amostras de *Str. agalactiae* (não assinalaram *Str. dysgalactiae* nem *Str. uberis*) e 7 amostras de *Corynebacterium pyogenes*.

Lacerda Jr. et al. (1954b) e Zani Neto (1955) ainda se ocuparam com aspectos bioquímicos de *Streptococcus* e *Staphylococcus* isolados de mastite bovina.

Estado de Minas Gerais

Carneiro et al. (1956), num levantamento zootécnico do rebanho leiteiro de Belo Horizonte, salientaram o achado de grande número de têtas "perdidas". Sobre o total de 4.053 vacas recenseadas, encontraram 395 animais com têtas "secas" ou seja 9,75%.

Figueiredo (1959) examinou 129 vacas, das quais 92 eram portadoras de mastite, em sua maioria, sub-clínica, 7 foram consideradas suspeitas e 30 negativas no exame clínico e na prova do "California mastitis test" (CMT). O estudo bacteriológico do leite das 99 vacas com mastite (incluídas as 7 suspeitas) acusou a presença de agentes infecciosos em 72,7%. Dentre os microrganismos patogênicos isolados figuram *Sta. aureus* em 57,4%, *Str. agalactiae* em 1,06%, outros *Streptococcus* em 35,1% (não foram identificados *Str. dysgalactiae* e *Str. uberis*), bacilos coliformes em 4,25% e *Corynebacterium pyogenes* em 2,12%.

Estado do Rio Grande do Sul

Martinez (1958), baseado em exames clínicos, observou um total de 6,2% de mastites, entre os anos de 1954 e 1956. Dentre as 97 vacas com mastite, 27 apresentaram "quartos secos".

Fernandes e Louzada (1967) fizeram comunicação sobre o uso e resultado do reagente por eles preparado para o CMT.

A falta de dados publicados sobre a extensão da mastite na bacia que abastece a cidade do Rio de Janeiro levou-nos a determinar a incidência e a etiologia das mastites nos rebanhos leiteiros da região.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedência do material estudado

Foram realizados exames em material coletado em 43 fazendas (rebanhos), das quais 30 localizadas em 15 municípios do Estado do Rio de Janeiro; 10 em 9 municípios do sul do Estado de Minas Gerais e 3 no Estado da Guanabara.

Havia grande heterogeneidade dos rebanhos, predominando o gado mestiço com maior ou menor grau de sangue zebuino. As condições econômicas e sanitárias das fazendas examinadas variavam.

Os rebanhos, em sua maioria, eram mantidos em regime de pastagem e as vacas ordenhadas em retiros ou estábulos, onde recebiam pequena suplementação alimentar. A ordenha era manual e, em geral, estimulada pela presença do bezerro, após algumas sucções em uma ou mais tétas. Em algumas fazendas fazia-se apenas uma ordenha diária, pela manhã, e neste caso o bezerro ficava com a vaca durante o dia por aproximadamente 6 horas.

Exame clínico dos animais

O exame constava da inspeção e palpação do úbere após a ordenha. Foram submetidas ao exame clínico 2.187 vacas em lactação nestas 43 fazendas.

Exame auxiliar de campo

Foi utilizado o "California mastitis test" (Schalm & Noorländer 1957) e examinado o leite das mesmas 2.187 vacas.

O reagente para a prova do CMT foi preparado com o detergente comercial ODD, segundo Fernandes e Louzada (1967), sendo por nós modificada a concentração do detergente e a composição dos indicadores. A fórmula é a seguinte:

Detergente comercial ODD ⁵	450 ml
Água destilada	450 ml
Púrpura bromo-cresol, solução 0,5%	15 ml
Verde bromo-cresol, solução 0,5%	5 ml

O pH foi ajustado para 8,0 antes de adicionar os indicadores. O reagente apresenta coloração azul-escura que contrasta bem com o leite.

Procedimento do CMT

O úbere era lavado com água limpa e enxugado com toalha. Estimulada a descida do leite, eram ordenhados os primeiros 2 a 3 ml de leite em cada copo da bandeja plástica com o cuidado de não formar espuma. Em seguida inclinava-se a bandeja até um ângulo de aproximadamente 45° para entornar o excesso de leite e deixar quantidade igual em cada copo. Adicionava-se então o reagente em cada copo, sem formar espuma, mais ou menos a mesma quantidade da do leite. Em seguida imprimiam-se movimentos circulares à mistura e dentro de 15 a 20 segundos fazia-se a leitura.

Leitura e interpretação

Dependendo do número de leucócitos, a reação varia dum leve precipitado até o desenvolvimento imediato de gel espesso. As alterações do pH são indicadas pela coloração da mistura. A alcalinidade é evidenciada pela coloração azul até violácea e a acidez pela cor tendendo para o amarelo. Os resultados obtidos foram interpretados da seguinte maneira:

mistura homogênea, inalterada, coloração azul-clara	reação negativa (-);
presença de ligeiro precipitado ou estrías visíveis sem formar massa gelatinosa	reação suspeita (±);
aparecimento de distinta viscosidade, passando para a formação de gel	reação positiva (++);
formação de densa massa gelatinosa (acumula-se mais no centro do copo), azul violácea	reação fortemente positiva (+++).

⁵ Orniex S.A., via Anchieta, Km 12, São Paulo, SP.

Exame bacteriológico do leite

A coleta do leite era precedida por limpeza da pele das tétas e da abertura do canal galactóforo com álcool a 70%. Os primeiros 2 ou 3 jatos eram desprezados e, em seguida, coletados cerca de 10 ml de leite em tubos de ensaio esterilizados, contendo 0,5 ml de solução a 1:300 de púrpura bromo-cresol para o teste de Hotis e Miller (1936).

No laboratório, o leite era incubado durante 15 a 18 horas a 37°C e então feita a leitura e interpretação do teste de Hotis. Em seguida, o mesmo leite era plaqueado em agar sangue e incubado por 24 horas. As colônias suspeitas eram isoladas para a identificação bacteriológica e reincubadas por mais 24 horas a 37°C.

A identificação das bactérias isoladas baseou-se nos seguintes caracteres e provas:

Streptococcus: hemólise, crescimento em 45°C, teste de CAMP (Christie et al. 1944), hidrólise da esculina e do hipurato de sódio, fermentação da trealose, do sorbitol, do manitol, da salicina, do inositol e da lactose (Stableforth 1959). Não foi feita grupagem sorológica;

Staphylococcus: hemólise, pigmentação das colônias, teste da coagulase e fermentação do manitol;

Corynebacterium pyogenes: hemólise, crescimento em 48 horas, digestão do meio de Loeffler, além das características morfológicas e tintoriais;

Pasteurella multocida: propriedades tintorial e cultural, produção de H₂S e de indol, fermentação de glicose, sacarose e manitol sem gás, patogenicidade para camundongos;

Escherichia coli: crescimento em meios diferenciais, prova do indol, urease, V.M. e V.P., fermentação da lactose, glicose com gás, utilização do citrato.

RESULTADOS

O exame clínico dos úberes das 2.187 vacas em lactação permitiu diagnosticar mastite clinicamente evoluída, aguda ou crônica, em 87 animais, afetando

101 quartos, ou seja, 4% das vacas examinadas e 1,1% do total dos quartos.

A mesma exploração clínica revelou que 141 vacas eram portadoras de 167 quartos secos, com ou sem sinais de mastite, perfazendo 7% dos animais e 2% dos quartos examinados.

O "California mastitis test" acusou reações suspeitas ou positivas em 429 vacas, num total de 821 quartos, ou seja, em 20% das vacas e em 9,3% dos quartos testados.

O exame bacteriológico das 821 amostras de leite ou secreção anormal do úbere, coletadas das 429 vacas, permitiu o isolamento e a identificação dos agentes etiológicos de mastite em 368 animais (85,7%), como registra o Quadro 1.

QUADRO 1. Bactérias patogênicas causadoras de mastite das 429 vacas positivas para o "California mastitis test"

Espécie	Número	Vacas infectadas*	
		429 vacas CMT positivas (%)	2.187 vacas examinadas (%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	106	24,7	4,8
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	74	17,2	3,3
<i>Streptococcus uberis</i>	20	4,6	0,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	227	53,1	10,3
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	18	4,2	0,8
<i>Pasteurella multocida</i>	4	0,9	0,2
<i>Escherichia coli</i>	2	0,4	0,1

* Foram isoladas do úbere de 31 vacas duas espécies bacterianas, ora como infecção mista, ora em quartos diferentes.

Os sete agentes etiológicos da mastite bovina estavam distribuídos nos rebanhos, segundo mostra o Quadro 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A presente investigação, realizada em 43 fazendas (rebanhos) e num total de 2.187 vacas em lactação

QUADRO 2. Distribuição dos germes isolados nos rebanhos *

Número de espécies isoladas	Número e percentagem dos agentes etiológicos das mastites nos diferentes rebanhos																	
	1			2			3			4			5					
Número do rebanho infectado*	4	1	5	1	1	7	1	1	1	1	1	1	1	1	2			
Número de vacas examinadas	120	40	281	69	48	404	75	21	50	42	23	68	75	48	254			
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)			
<i>Str. agalactiae</i>	24,0				14,6			10,0	2,0	7,1				8,0	11,0	28,0		
<i>Str. dysgalactiae</i>		2,5				6,1			20,0	2,0		7,2	1,4	2,6	2,0	6,0	13,6	
<i>Str. uberis</i>											3,5				2,0		7,2	
<i>Sta. aureus</i>			8,8		16,6	9,5			40,0		15,0	25,0	1,4	20,0	4,0	2,0	37,7	38,8
<i>Coryneb. pyogenes</i>				1,4			2,6		2,0	4,8		10,3			2,0			1,2
<i>Past. multocida</i>															4,0		4,4	
<i>Escherichia coli</i>							1,3							1,3				

* Em 12 rebanhos (468 vacas) não houve casos de mastite.

da bacia leiteira do Rio de Janeiro, mostrou que o exame clínico dos úberes, acusando apenas 4% de mastites evoluídas (mastites clínicas), dá uma falsa impressão sobre a situação real do problema das mastites na região, pois o uso do "California mastitis test" revelou a ocorrência de distúrbios na secreção mamária em 20% das vacas. O exame bacteriológico confirmou em 85,7% a infecção bacteriana.

O confronto destes dados comprova a alta incidência de mastites subclínicas em nosso meio e a grande utilidade prática do CMT como meio auxiliar de diagnóstico da mastite bovina, em áreas onde não há laboratórios bacteriológicos para a diagnose etiológica. O mesmo teste permite obter *in loco* uma orientação sobre o grau de disseminação da mastite no rebanho.

Este estudo mostrou que 12 (28%) dos 43 rebanhos estavam livres de mastites e que, nos contaminados, havia grande variação da incidência dos 7 agentes etiológicos identificados, bem como da intensidade de infecção (Quadro 2). Os autores não puderam relacionar estas variações com a raça, idade e manejo do rebanho, por se tratar de animais mestiços, predominando ora as raças zebuínas, ora as européias; pela imprecisão de dados quanto à idade e ao número de partos e finalmente pelas nuances no manejo.

O achado de mastite, causada por *Pasteurella multocida*, em 4 vacas procedentes de duas fazendas, despertou curiosidade por sua raridade e pela alteração macroscópica do leite que se apresentou sob forma de secreção viscosa purulenta. A *Pasteurella* foi isolada em cultura pura. Mastites por *Pasteurella* já são conhecidas desde o trabalho de Stazzi, em 1907, como os de outros autores, segundo Heidrich e Renk (1963).

O índice, relativamente alto (7%), de "têtas secas" observadas em nossa investigação, confirma o achado de Carneiro *et al.* (1956), que assinalou 9,75% de quartos secos no rebanho leiteiro de Minas Gerais atribuíveis, em parte, a seqüelas de mastites infecciosas não tratadas ou tratadas sem sucesso, mas

também devido a falhas de manejo e de tratamento adequado das têtas lesadas acidentalmente.

Comparando os nossos resultados com os de Figueiredo (1959), verificamos que na bacia leiteira de Belo Horizonte, ou mais precisamente, no Município de Betim, a infecção por *Str. agalactiae* foi assinalada em apenas 1%, enquanto nós a encontramos em 24,7% nas vacas da bacia leiteira do Rio de Janeiro. Esta variação de incidência nestas áreas geográficas é notória e seria desejável fossem feitos levantamentos etiológicos da mastite bovina, em outras bacias leiteiras, para melhor conhecimento do problema em âmbito nacional.

REFERÊNCIAS

- Carneiro, G.G., Memoria, J.M.P., Brandão, E. & Drumond, C.A. 1956. A "bacia" leiteira de Belo Horizonte. Arqs Esc. Vet. Minas Gerais 9:71-119.
- Christie, R., Atkins, N. E. & Munch-Petersen, E. 1944. A note on the lytic phenomenon shown by group beta staphylococci. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 22:197-200.
- Fernandes, J.C.F. & Louzada, C.A.R. 1967. Viamão mastite test. (Nota prévia). Anais 7.^a Reun. Anual Soc. Vet. Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Figueiredo, J.B. 1959. Estudo sobre a mamite bovina no Município de Betim, Minas Gerais. Tese, Esc. Sup. Vet., Univ. Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Heidrich, H.J. & Renk, W. 1963. Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren. Paul Parey, Berlin.
- Hotis, R.P. & Miller, W.T. 1936. A single method for detecting mastitis streptococci in milk. U.S. Dept. Agric., Circ. 400.
- Lacerda Jr., P.M.G., Zani Neto, L. & Freitas, D.C. 1954a. Estudo sobre mastites bovinas. I. Contribuição ao estudo dos agentes etiológicos das mastites bovinas. Revta Fac. Med. vet., Univ. S. Paulo, 5:55-64.
- Lacerda Jr., P.M.G., Freitas, D.C. & Zani Neto, L. 1954b. Estudo sobre mastites bovinas. II. Verificação da sensibilidade de agentes etiológicos de mastites a penicilina e estreptomycin. Revta Fac. Med. vet., Univ. S. Paulo, 5: 65-71.
- Martinez, F.S. 1958. Doenças do úbere nas vacas leiteiras do P.Z.C., Dipan. Bolm Dir. Prod. Anim., Porto Alegre, 10: 5-11.
- Reis, J. 1930. As mamites animais. Revta Ind. Anim. S. Paulo 1:649-657.
- Schalm, O.W. & Noorländer, D.O. 1957. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J. Am. vet. med. Ass. 130:199-204.
- Soares Filho, F. 1945. Valor da prova de Hotis para evidenciar no leite a presença de estreptococos de mastite. Revta Ind. Anim. S. Paulo 7(3-4):57-63.
- Stableforth, A.W. 1959. Streptococcal diseases, p. 589-650. In Stableforth, A.W. & Galloway, I.A. (ed.). Infection of animals. Diseases due to bacteria. Butterworths Scientific Publ., London.
- Zani Neto, L. 1955. Estudos sobre *Micrococcus pyogenes* de mastite bovina. Revta Fac. Med. vet., Univ. S. Paulo, 5:353-360.

THE OCCURRENCE OF THE BOVINE MASTITIS IN THE "DAIRY BELT" OF RIO DE JANEIRO

Abstract

2,187 lactating cows from 43 farms in 25 districts of the "dairy belt" around Rio de Janeiro, were examined. The clinical exploration of the udders showed that 101 quarters of 87 cows (4%) were affected by acute or chronic mastitis. Hundred and forty one cows (7%) had 167 dry quarters. The California mastitis test has shown in 429 cows (20%) some disturbance of milk samples of these cows were isolated: *Streptococcus agalactiae* in 106 (24,7%); *Str. dysgalactiae* in 74 (17,2%); *Str. uberis* in 20 (4,6%); *Staphylococcus aureus* in 227 (53,1%); *Corynebacterium pyogenes* in 18 (4,2%); *Pasteurella multocida* in 4 (0,9%) and *Escherichia coli* in 2 (0,4%).

No mastitis was detected in 12 farms and in 11 cases only one species of microorganism was found; in the others 2 to 5 species were identified.