

DURAÇÃO DAS INFECÇÕES NATURAIS DA GLÂNDULA MAMÁRIA POR ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVOS EM VACAS PRIMÍPARAS

LUÍS CARLOS VIANNA¹
ERNST ECHEHARDT MÜLLER²
JULIO CESAR DE FREITAS²
LUCIENNE GARCIA PRETTO-GIORDANO³
ROGÉRIO SALVADOR⁴
JULIANA ALVES DIAS⁴

VIANNA, L. C.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C. de; PRETTO-GIORDANO, L. G.; SALVADOR, R.; DIAS, J. A. Duração das infecções naturais da glândula mamária por estafilococos coagulase negativos em vacas primíparas. *Semina: Ci. Agrárias*, Londrina, v. 21, n. 1, p. 9-14, mar. 2000.

RESUMO: Foram analisadas amostras de leite de 114 vacas primíparas, de nove propriedades de leite da região oeste do Estado de São Paulo. No 7º dia de lactação, 42 (36,84%) apresentaram infecção em 69 (41,07%) quartos mamários. Os principais agentes etiológicos das infecções intramamárias, no 7º dia, foram os estafilococos coagulase negativos (ECN), com ocorrência de 53,62%, seguidos pelo *Corynebacterium* spp, com 26,08%; e estafilococos coagulase positivos (ECP), com 11,59% das amostras positivas. A partir do 7º dia de lactação, nos quartos mamários previamente infectados, houve uma tendência decrescente das infecções por ECN, ($r = 0,63$; $r^2 = 0,4$) e, simultaneamente, ocorreram novas infecções, por outros patógenos, nestes mesmos quartos. Ao 150º dia, não foram isolados ECN. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre o número de infecções por ECN, por quarto de úbere. Ocorreu diferença significativa ($P \leq 0,01$) entre a média da contagem de células somáticas (CCS) das amostras de leite, provenientes de quartos infectados por ECN ($397 \times 10^3/\text{mL}$) e de quartos negativos ($104 \times 10^3/\text{mL}$).

PALAVRAS-CHAVE: Mastite, estafilococos coagulase negativos, vacas primíparas.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina constitui-se em uma das enfermidades mais importantes do rebanho leiteiro, capaz de determinar consideráveis perdas econômicas, caracterizadas, principalmente pela queda na produção, pelo comprometimento das características físico-químicas do leite e pela perda total, em muitos casos, da capacidade secretora da glândula mamária (Nader Filho, 1987; Nicolau *et al.*, 1992). Além disso, o leite de vacas com mastite pode veicular toxinas e resíduos de antibióticos (Sauber, 1988; Costa, 1991).

As infecções da glândula mamária são classificadas em clínica e subclínica, podendo a forma clínica ser responsável, por até 18% dos prejuízos e a subclínica por até 82%. As perdas por mastite subclínica, que é a forma predominante nos rebanhos leiteiros, são devidas, principalmente, à diminuição na produção e composição do leite. A

queda na secreção de leite, por vaca e por quarto infectado, pode variar de 5 a 84% e de 6 a 46%, respectivamente (Du Preez & Giesecke, 1994).

Nos Estados Unidos, os prejuízos devidos à mastite foram estimados em dois bilhões de dólares anuais, o que pode corresponder à U\$ 180,00 por vaca (Nonnecke & Harp, 1989; Cullor, 1993). No Brasil, Costa *et al.* (1995) relataram que, nos Estados de Minas Gerais e São Paulo, os prejuízos devidos à mastite subclínica, nos rebanhos estudados, foram de U\$ 332,20 por vaca.

Com referência às infecções intramamárias, em vacas primíparas, os índices citados na literatura são variados e geralmente elevados. Infecções variando de 10 a 97% foram citadas por Meaney (1981), Daniel *et al.* (1986), Oliver (1987), Pankey *et al.* (1991) e Waage *et al.* (1999). No Brasil, Pardo *et al.* (1998) relataram infecções em 176 (26,5%) quartos de 88 vacas primíparas, na primeira semana pós-parto, enquanto Costa *et*

¹ Médico Veterinário, aluno do Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal, Dep. de Med. Vet. Prev. (DMVP), Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Estadual de Londrina (UEL).

² Prof. Dr. Titular do DMVP/CCA/UEL

³ Médica Veterinária, Msc, Laboratório de Microbiologia e Doenças Infecciosas, DMVP/CCA/UEL.

⁴ Aluno do curso de graduação de Medicina Veterinária, bolsista do PIBIC-CNPq-UEL.

al. (1999) detectaram infecções em 47,6% das amostras provenientes de 45 vacas examinadas entre o 7º e 10º dia pós-parto.

Os microrganismos isolados, com maior frequência, na secreção láctea das vacas primíparas foram os estafilococos coagulase negativos (ECN). Em vários estudos, nos EUA, realizados no pré e pós-parto, a variação de infecções por ECN foi de 11,0 a 57,8% (Oliver & Mitchell, 1983; Matthews *et al.*, 1992; Myllys, 1995). No Brasil, Pardo *et al.* (1998) e Laffranchi (2000) encontraram 35,29% e 68,05% de ECN, respectivamente.

Em relação à persistência dos ECN ao longo da lactação, trabalhos realizados em diversas regiões do mundo mostraram diferentes resultados. Trinidad *et al.* (1990), Pankey *et al.* (1991) e Matthews *et al.* (1992) verificaram que anteriormente ao parto os índices de infecções por ECN eram altos e que a partir do início da lactação diminuíram em frequência.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a duração das infecções intramamárias por ECN, em vacas primíparas.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de fevereiro/98 a janeiro/99 foram estudadas 114 vacas primíparas provenientes de nove rebanhos leiteiros, da região oeste do Estado de São Paulo. Os rebanhos eram compostos por diferentes raças, sendo predominante a holandesa. Todas as propriedades eram produtoras de leite tipo B, utilizavam ordenhadeira mecânica e adotavam as principais medidas indicadas para a prevenção e controle da mastite nas vacas em lactação e secas. Para as novilhas e vacas primíparas não eram adotadas medidas especiais.

As amostras de leite foram colhidas no 7º, 30º, 60º, 90º, 120º e 150º dia pós-parto. Na primeira colheita, foram obtidas amostras individuais de leite de todos os quartos mamários. A partir da 2ª colheita, foram excluídas do experimento as vacas com dois exames bacteriológicos consecutivos negativos para ECN ou as que apresentaram isolamento de outro microrganismo em quarto anteriormente infectado por ECN. A colheita do leite foi precedida do teste da caneca, da lavagem dos tetos, secagem com papel toalha e anti-sepsia com álcool 70º GL. Aproximadamente 3 ml de leite foram colhidos em tubos estéreis, com tampa de rosca, e conservados a - 20º C por até 10 dias, para o processamento.

Para a contagem de células somáticas (CCS) foram colhidos, aproximadamente, 100 ml de leite, a partir do 30º dia pós-parto. Essas amostras foram conservadas em dicromato de potássio, à temperatura ambiente, por um período de até cinco dias.

Para o isolamento dos microrganismos, as amostras de leite foram semeadas em placas de ágar sangue ovino 5% e ágar Mac Conkey e incubadas, a 37ºC, em aerofilia, por até cinco dias. A identificação foi realizada através das características culturais, morfológicas, tintoriais e bioquímicas (Krieg & Holt, 1984; Carter, 1988).

A CCS foi efetuada por citometria de fluxo (Somacount 500, Bentley Instruments, Inc., EUA) pelo Laboratório do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH).

A avaliação estatística foi realizada através da Análise de Variância, Qui Quadrado e Regressão Linear Simples (Gomes, 1987; Spigel, 1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 114 vacas primíparas examinadas no 7º dia pós-parto, 42 (36,84%) apresentaram infecção no úbere. Dos 168 quartos examinados dessas vacas, em 69 (41,07%) obteve-se o isolamento bacteriano, com predominância dos ECN, em 37 (53,62%), *Corynebacterium* spp em 18 (26,08%), estafilococos coagulase positivo (ECP), em 8 (11,59%), e estreptococos, em 3 (4,34%) (Tabela 1).

Diferentes autores citaram porcentagens de infecções intramamárias em vacas primíparas, variando de 10,4 a 64% (Munch-Petersen, 1970; Meaney, 1981; Daniel *et al.*, 1986; Oliver, 1987; Pankey *et al.*, 1991). No Brasil, Pardo *et al.* (1998), Costa *et al.* (1999) e Laffranchi (2000), analisando amostras de leite colhidas do parto até o 10º dia de lactação, isolaram microrganismos em 26,5%, 47,6% e 57,96%, respectivamente. Essas variações podem ser explicadas pelas diferentes práticas de manejo e higiene nas propriedades, produtividade dos animais e período da colheita das amostras do leite. Nos poucos trabalhos com vacas primíparas, realizados no Brasil, os relatos coincidem em relação à predominância dos ECN nas infecções intramamárias. Pardo *et al.* (1998), no 7º dia pós-parto, isolaram ECN em 59% dos quartos infectados, números próximos aos encontrados neste trabalho. Costa *et al.* (1999) identificaram estafilococos em 40% dos quartos positivos, nos primeiros 10 dias de lactação, sendo 95% ECN. Laffranchi (2000), no 7º dia de lactação, isolou ECN em 72% dos quartos infectados. Costa *et al.* (1999) e Laffranchi (2000) relataram os estreptococos como o segundo agente etiológico mais isolado, em contraposição aos resultados deste trabalho, que identificou o *Corynebacterium* spp.

Na Figura 1, observa-se que as infecções por ECN diminuem gradativamente, nos mesmos quartos,

durante a lactação, não sendo mais isolados no 150º dia ($r = 0,63$; $r^2 = 0,4$). Na mesma Figura, observa-se que, a partir do 30º dia, a diminuição das infecções por ECN coincide com o aumento do número de infecções, nos mesmos quartos, por outros patógenos, como os ECP, *Corynebacterium* spp, *Escherichia coli*, *Actinomyces pyogenes*, *Enterobacter*

spp e estreptococos. A infecção dos quartos mamários por esses patógenos, provavelmente, deve-se a falhas no manejo e higiene de ordenha (Bramley & Dodd, 1984; Mendonça *et al.*, 1999).

As pesquisas sobre a dinâmica das infecções intramamárias, ao longo da lactação, por ECN são discordantes, não se atendo, especificamente às

Tabela 1 – Microrganismos isolados dos 69 quartos mamários de vacas primíparas no 7º dia de lactação, colhidos em nove propriedades produtoras de leite, localizadas no oeste do Estado de São Paulo.

Microrganismos	Quartos	
	Nº	%
ECN ^(a)	37	(22,02)
<i>Corynebacterium</i> spp	18	(10,71)
ECP ^(b)	8	(4,76)
Estreptococos	3	(1,79)
<i>Escherichia coli</i>	2	(1,19)
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1	(0,60)
Total positivo (1)	69	(41,07)
Total negativo (2)	99	(58,93)
Total 1+2	168	100

(a) Estafilococos coagulase negativos

(b) Estafilococos coagulase positivos

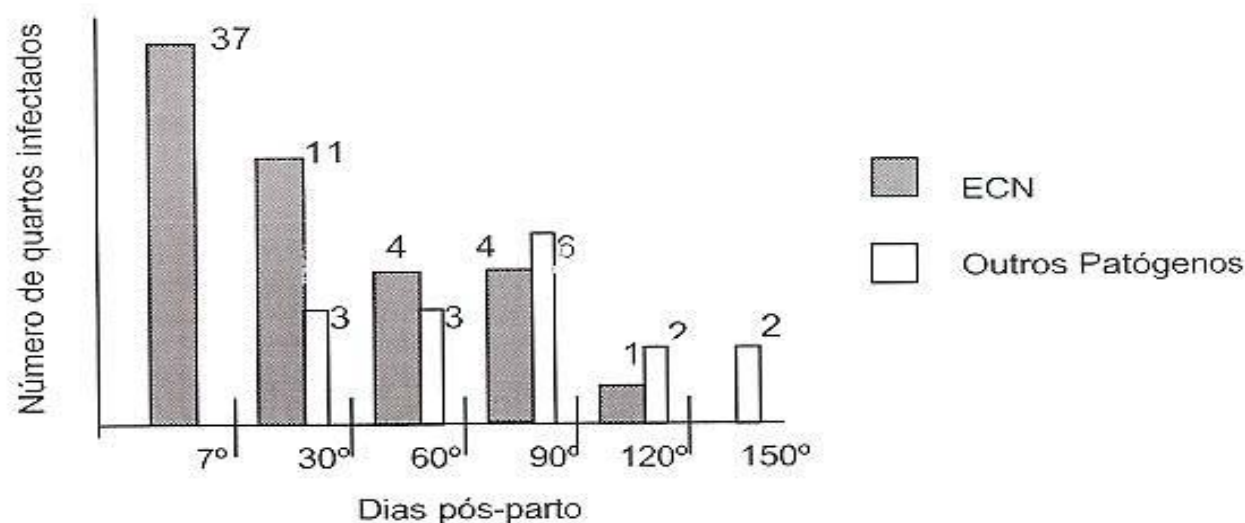


Figura 1 – Duração das infecções por estafilococos coagulase negativos (ECN) e novas infecções por outros patógenos, nos mesmos quartos, ao longo da lactação de 42 vacas primíparas, provenientes de nove propriedades produtoras de leite, localizadas no oeste do Estado de São Paulo.

vacas primíparas. Timms & Schultz (1987) relataram que as infecções por ECN aumentaram durante a lactação. Harmon & Langlois (1989) mostraram que as infecções intramamárias se mantiveram relativamente constantes, enquanto Smith & Hagstad (1985) e Hogan *et al.* (1987) verificaram uma diminuição nos índices de infecções por ECN ao longo da lactação. Em relação às vacas primíparas, a maioria dos autores concordam que ocorre uma diminuição acentuada nas infecções por ECN, no 1º dia de lactação, em relação às diagnosticadas no 7º e 14º dias de lactação (Oliver & Mitchell, 1983; Oliver, 1987, Pardo *et al.* 1998). Essa diminuição provavelmente se deve à frequência, manejo e higiene de ordenha. Matthews *et al.* (1992) acompanharam a prevalência das infecções por ECN, em quartos de vacas multiparas, até a 5ª semana pós-parto e observaram uma diminuição de aproximadamente 50%. Laffranchi (2000) também observou queda acentuada nos isolamentos do 1º dia, em relação ao 7º dia pós-parto, entretanto, a partir desse dia, as infecções tenderam a permanecer constantes, principalmente devido às reinfecções. Considerando as infecções persistentes nos mesmos quartos, a autora verificou que, dos 84 quartos infectados por ECN no 1º dia pós-parto, apenas 7 persistiram infectados no 120º dia.

Na Figura 2, a média da CCS do leite de 24 quartos

infectados por ECN foi de $397 \times 10^3/\text{mL}$ e de 188 quartos negativos de $104 \times 10^3/\text{mL}$ de leite, diferença significativa ($P < 0,01$). Esses valores estão de acordo com Harmon & Langlois (1986) que afirmaram que os patógenos menores, como os ECN, normalmente duplicam ou triplicam a contagem, em relação aos quartos não infectados. Infecções intramamárias por ECN, com média de CCS entre 250 a $400 \times 10^3/\text{mL}$ de leite, foram observadas por vários pesquisadores e podem determinar uma perda estimada em 7% na produção de leite, ou de 1000 libras/vaca/ano (Pankey, 1990; Nickerson & Boddie, 1994; Harmon, 1998).

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho mostram a elevada ocorrência de infecções intramamárias por ECN, nas vacas primíparas, no 7º dia pós-parto. Porém, durante a lactação, observou-se que o número de infecções por ECN, no mesmo quarto mamário, decresceu, ocorrendo ao mesmo tempo um aumento de infecções por outros microrganismos. Nenhuma infecção intramamária por ECN persistiu até o 150º dia. O aumento significativo na contagem de células somáticas determinou uma provável queda na produção de leite. Estes resultados justificam a adoção de medidas de controle e profilaxia para mastite também em vacas primíparas.

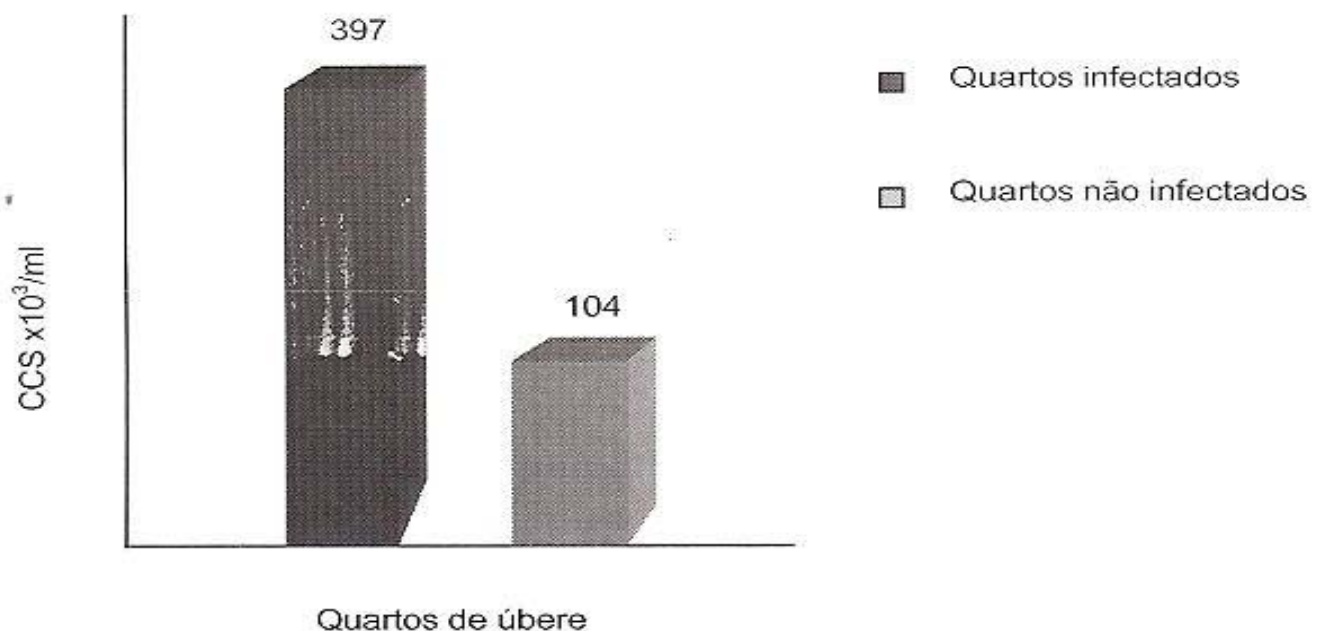


Figura 2 – Contagem de células somáticas (CCS) em amostras de leite dos quartos infectados por estafilococos coagulase negativos (ECN) e dos quartos negativos de vacas primíparas, provenientes de nove propriedades produtoras de leite, localizadas no oeste do Estado de São Paulo.

VIANNA, L. C.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C. de; PRETTO-GIORDANO, L. G.; SALVADOR, R.; DIAS, J. A. Duration of the natural infection of the mammary gland by coagulase negative staphylococci in primiparous cows. *Semina: Ci. Agrárias, Londrina*, v. 21, n. 1, p. 9-14, mar. 2000.

ABSTRACT: One hundred fourteen primiparous cows were analyzed. They were from nine milk properties of the west region of São Paulo state. On the seventh day of lactation, 42 (36,84%) showed infections in 69 (41,07%) quarters. The main aetiologic agents of the intramammary infections on the seventh day, were coagulase-negative staphylococci (CNS) with 53,62%, followed by *Corynebacterium spp* with 26,08% and coagulase-positive staphylococci (CPS), with 11,59% of the positive samples. From the seventh day of lactation on there was a decreasing tendency of the infections by SCN in the previously infected mammary quarter ($r = 0,63$, $r^2 = 0,4$) and simultaneously there were new infections by other pathogen in these quarter. On the 150th day, the CNS were not isolated. There was not significant difference ($P > 0,05$) about the number of infections by udder quarter. There was significant difference ($P \leq 0,01$) between the average of the somatic cell count (SCC) of the milk samples. It comes from the infected quarters by SCN ($397 \times 10^3/\text{mL}$) and of negative quarters ($104 \times 10^3/\text{mL}$).

KEY WORDS: Mastitis, staphylococci coagulase-negative, primiparous cows.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAMLEY, A.J.; DODD, F.H. Reviews of the progress of dairy science. Mastitis control progress and prospects. *J. Dairy Sci.*, v.51, p.481-512, 1984.
- CARTER, G.R. *Fundamentos de Bacteriologia e Micologia*. 3. ed. São Paulo: Roca, 1988. 249p.
- COSTA, E.O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. *Rev. Com. Cien. USP*, v.15, n.1, p.21-26, 1991.
- COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATTANABE, E.T.; WHITE, C.R.; PARDO, R.B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.17, n.5, p.215-217, 1995.
- COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATTANABE, E.T. Infecções intramamárias em novilhas primíparas do período pré ao pós-parto e sua importância no controle de mastite. *Nagana*, n.1, p.16-20, 1999.
- CULLOR, J.S. The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. *Vet. Med.*, n.88, p.571-9, 1993.
- DANIEL, R.C.W.; BARNUM, D.A.; LESLIE, K.E. Observations on intramammary infections in first calf heifers. *Can. Vet. J.*, v.27, p.112-115, 1986.
- Du PREEZ, J.H.; GIESECKE, W.H. Mastitis, In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R. *Infectious diseases of livestock*. [S. l.]: Oxford University Press, 1994. v.2, p.1564-1595.
- GOMES, F.P. *Curso de Estatística Experimental*. 12.ed. Piracicaba: Nobel, 1987. 466p.
- HARMON, R.J.; LANGLOIS, B.E. Prevalence of minor pathogens and associated somatic cell counts. *Proc. Ann. Mtg. Natl. Mast. Counc.*, p.11, 1986.
- HARMON, R.J.; LANGLOIS, B.E. Mastitis due to coagulase-negative Staphylococcus species. *Agri-Pract.*, v.10, p.29-34, 1989.
- HARMON, R.J. Somatic cell counts: myths vs reality. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL REGIONAL MEETING, 37, Bellevue. *Proceedings...* Madison, 1998. p.40-50.
- HOGAN, J.S.; PANKEY, J.W.; SMITH, K.L. Staphylococcus species other than Staphylococcus aureus. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL REGIONAL MEETING, 26, 1987, Orlando. *Proceedings...* Florida, 1987. p.21-32.
- KRIEG, N.R.; HOLT, J.G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. 1268p.
- LAFFRANCHI, A. *Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação*. Londrina/PR, 2000. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) - Universidade Estadual de Londrina.
- MATTHEWS, K.R.; HARMON, R.J.; LANGLOIS, B.R. Prevalence of Staphylococcus species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.1835-1839, 1992.
- MEANEY, W.J. Mastitis levels in spring-calving dairy heifers. *Irish. Vet. J.*, v.35, p.205-209, 1981.
- MENDONÇA, C.L.; FIORAVANTI, M.C.L.; SILVA, J.A.B.; SOUZA, M.I.L.; EURIDES, D.; LANGONI, H. Etiologia da mastite bovina. *Vet. Not.*, v.5, n.1, p.107-118, 1999.
- MUNCH-PETERSEN, E. Mastitis in bovine primiparae. *Vet. Rec.*, v.87, p.568-574, 1970.
- MYLLYS, V. Staphylococci in heifers mastitis before and after parturition. *J. Dairy Res.*, v.62, p.51-60, 1995.
- NADER FILHO, A. *Mastite estafilocócica: características microbiológicas do leite pasteurizado tipo B "in natura" e pasteurizado. Isolamento de cepas de S. aureus, produção de enterotoxinas e determinação da origem provável, humana ou bovina*. Jaboticabal/SP, 1987. Tese (Livro Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / UNESP.

- NICKERSON, S.C.; BODDIE, R.L. Effect of naturally occurring coagulase-negative staphylococcal infections on experimental challenge with major mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.*, v.77, p.2526-2536, 1994.
- NICOLAU, E.S.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L.A.; PENHA, L.H.C. Influência da mastite estafilocócica sobre a produção láctea dos quartos afetados. *Ars. Vet.*, v.8,n.2, p.118-124, 1992.
- NONNECKE, B.J.; HARP, J.A. Function and regulation of lymphocyte mediated immune responses: relevance to bovine mastitis. *J. Dairy Sci.*, v.72, p.1313-1327, 1989.
- OLIVER, S.P.; MITCHELL, B.A. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. *J. Dairy Sci.*, v.66, p.1180-1183, 1983.
- OLIVER, S.P. Intramammary infections in heifers at parturition and during early lactation in a herd with a high prevalence of environmental mastitis. *Tennessee Farm Home Sci.*, v.143, p.18-22, 1987.
- PANKEY, J.W. Prevalence of mastitis in first lactation cows. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE MASTITIS, 1990, Indianapolis. *Proceeding...* Indianapolis, 1990. p.108-111.
- PANKEY, J.W.; DRECHSLER, P.A.; WILDMAN, E.E. Mastitis prevalence in primigravid heifers at parturition. *J. Dairy Sci.*, v.74, p.1550-1553, 1991.
- PARDO, P.E.; METTIFOGO, E.; MULLER, E.E.; NASCIMENTO, E.R.; BUZINHANI, M.; YAMAGUTI, M.; FREITAS, J.C. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto. *Pesq. Vet. Bras.*, v.18, p.115-118, 1998.
- SAUBER, C.M. Equipping the in-clinic bovine mastitis laboratory. *Vet. Med. Food-Anim. Prat.*, p. 213-218, 1988.
- SMITH, R.E.; HAGSTAD, H.V. Infection of the bovine udder with coagulase-negative staphylococci. In: PROGRESS in the Control of Bovine Mastitis, 1985, F.R. Germany, Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte, 1985, p.611-614.
- SPIGEL, M.R. *Estatística*. 3.ed. São Paulo: Makron Books, 1993. 643p.
- TIMMS, L.L.; SCHULTZ, L.H. Dynamics and significance of coagulase negative staphylococcal intramammary infections. *J. Dairy Sci.*, v.70, p.2648-2657, 1987.
- TRINIDAD, P.; NICKERSON, S.C.; ALLEY, K. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v.73, p.107-114, 1990.
- WAAGE, S.; MORK, T.; ROROS, A.; AASLAND, D.; HUNSHAMAR, A.; ODEGAARD, S.A. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, v.82, p.712-719, 1999.