

Mastite bovina por *Mycoplasma bovis* em rebanhos leiteiros¹

Lucienne G. Pretto², Ernst E. Müller³, Júlio C. Freitas³, Elena Mettifogo⁴, Melissa Buzinhani⁵, Maurício Yamaguti⁵ e Rogério Salvador⁵

ABSTRACT.- Pretto L.G., Müller E.E., Freitas J.C., Mettifogo E., Buzinhani M., Yamaguti M. & Salvador R. 2001. [Mastitis caused by *Mycoplasma bovis* in dairy cattle] Mastite bovina por *Mycoplasma bovis* em rebanhos leiteiros. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 21(4):143-145. Depto Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 6001, Londrina, PR 86051-970, Brazil.

In this study 713 cows were examined. The animals were from three dairy farms in northern Paraná and the southwest of the State of São Paulo. From these cows, 137 had mastitis. On the three farms, 8 cows (1.12%) with *Mycoplasma bovis* mastitis were detected. Four were treated with tylosin and oxytetracyclin and three with enrofloxacin. There was no response to the treatments, and these animals were culled during the lactation period. One cow treated with enrofloxacin almost totally recovered milk production, but elimination of *M. bovis* continued during the lactation, and there was no bacteriological cure. This cow had a normal milk production in the next lactation period, without elimination of *M. bovis*. Culling of positive animals, the bacteriological study and correct application of preventive practices for contagious mastitis controlled the dissemination of *M. bovis* to other animals.

INDEX TERMS: Mastitis, dairy cattle, *Mycoplasma bovis*.

RESUMO.- Foram examinadas 713 vacas de três rebanhos leiteiros localizados na região norte do Estado do Paraná e sudoeste do Estado de São Paulo, das quais 137 apresentaram mastite. Nas três propriedades foram detectados oito animais (1,12%) com mastite clínica por *Mycoplasma bovis*. Destes animais, quatro tratados com oxitetraciclina e tilosina e três com enrofloxacina, não responderam ao tratamento e foram descartados no decorrer da lactação. Uma vaca medicada com enrofloxacina recuperou quase que totalmente a secreção láctea mas a eliminação de *M. bovis* persistiu por toda lactação. Esta vaca apresentou cura bacteriológica na lactação seguinte. O descarte dos animais positivos, monitoramento bacteriológico e a aplicação correta das medidas de

prevenção para as mastites contagiosas controlaram a disseminação de *M. bovis* nos rebanhos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mastite, gado leiteiro, *Mycoplasma bovis*.

INTRODUÇÃO

Hale et al. (1962) relataram o primeiro caso de mastite bovina por *Mycoplasma agalactiae* subsp. *bovis*, posteriormente denominado por Aska & Erno (1976) de *Mycoplasma bovis*. No Brasil, a primeira citação de mastite por *M. bovis* foi de Mettifogo et al. (1996) na região de Londrina, Estado do Paraná.

Dentre as várias espécies de micoplasmas *M. bovis* é considerado o mais freqüente e patogênico nas infecções da glândula mamária (Boothby et al. 1986), sendo responsável por surtos esporádicos de alta contagiosidade (Boughton 1979, Jasper 1987). A mastite por *M. bovis* caracteriza-se pelo aumento de casos clínicos que não respondem à terapêutica, gravidade dos sintomas, múltiplos quartos com infecção e redução acentuada na secreção láctea (Bushnell 1984). *M. bovis* pode ser introduzido em rebanhos livres da doença pela aquisição de animais portadores. No rebanho o microrganismo é disseminado durante a ordenha, aerossóis e secreções de animais com distúrbios respiratórios e genitais. As vias hematogena ou linfática são responsabilizadas pela dissemi-

¹Aceito para publicação em 9 de julho de 2001.

²Médica Veterinária, mestranda. Depto Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, Londrina, PR 86051-970.

³Professores Titulares. Depto Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina.

⁴Mestre em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo.

⁵Acadêmico do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina. Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, PIBIC.

nação do micoplasma de um órgão infectado para outro (Sachse et al. 1993, Bennet & Jasper 1977). A principal medida de controle das mastites por *M. bovis* é a detecção de animais infectados e a eliminação dos mesmos. Paralelamente, são recomendadas as medidas preventivas para as mastites contagiosas como a higiene de ordenha, imersão dos tetos em solução antiséptica após a ordenha, desinfecção e manutenção do equipamento de ordenha (Gunning & Shepherd 1996).

Este trabalho teve por objetivo registrar a ocorrência de mastite por *M. bovis* em rebanhos leiteiros e descrever as medidas de controle adotadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Rebanhos. Foram acompanhadas três propriedades leiteiras localizadas na região norte do Estado do Paraná (1) e na região sudoeste do Estado de São Paulo (2). Os rebanhos eram constituídos de 75, 575 e 63 vacas holandesas preto e branca em lactação. Nas propriedades com ordenha mecânica eram adotadas medidas usuais de prevenção de mastite como a higienização prévia dos tetos, imersão pós-ordenha em solução antiséptica e tratamento das vacas ao secar.

Amostras de leite para exame microbiológico. Nos rebanhos a mastite foi detectada por exames clínicos e pelo California Mastitis Test (CMT). Dos animais com mastite foram colhidas amostras individuais de leite dos quartos afetados, obedecendo as normas de colheita e transporte (Langenegger et al. 1981). Em duas propriedades foram colhidas amostras de secreções vaginal e nasal das vacas com mastite por *M. bovis* e secreção nasal dos bezerras com idade de 10 a 150 dias.

Exames laboratoriais. No laboratório o leite foi semeado em ágar sangue ovino 5% e ágar Mac-Conkey e incubado à 37°C em aerofilia por até cinco dias. Para o isolamento de micoplasma foi empregado o ágar de Hayflick modificado e as placas incubadas à 38°C por até dez dias em microaerofilia. As colônias de micoplasma foram caracterizadas por meio de provas bioquímicas e sorológicas. Para a identificação bioquímica do agente utilizou-se em meio sólido a observação de filmes e manchas e o teste de sensibilidade à digitonina (requerimento de esteroide), e em meio líquido, a prova de fermentação da glicose e hidrólise da arginina. Para confirmação da espécie foram realizados os testes de inibição do crescimento e reação de imunofluorescência direta (RIFD) e da imunoperoxidase indireta (IPI) (Imada et al. 1987, Whitford et al. 1994).

Antibioticoterapia. O tratamento dos animais com mastite por *M. bovis* foi por dois procedimentos terapêuticos. Quatro animais foram medicados por via parenteral com tilosina (10mg/kg, 12/12 horas por cinco dias) e oxitetraciclina (10mg/kg, duas vezes a cada 36 horas) e os outros quatro com enrofloxacin (2,5mg/kg, 24/24 horas por cinco dias).

Medidas de controle. Para o controle das mastites por micoplasma foi introduzida a alteração na seqüência da ordenha, monitoramento bacteriológico, realização periódica do CMT, antibioticoterapia e descarte dos animais positivos. Além disto, foram utilizados antisépticos e desinfetantes nas concentrações adequadas, as tetas foram higienizadas e secas, foi realizado o teste de Tamis, pré- e pós-imersão das tetas e feita desinfecção, manutenção e revisão regular do equipamento de ordenha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 713 animais examinados, 137 (19,2%) apresentaram mastite clínica ou subclínica e oito destes tiveram mastite por *M. bovis*. O Quadro 1 apresenta os índices de mastite distribuídos por propriedade. Inicialmente, foram isoladas 19 amostras de *M. bovis*, de quatro quartos em três vacas, de dois em duas e de um em três. Todos os quartos infectados apresentavam mastite clínica aguda. Posteriormente, ocorreu a disseminação de *M. bovis* para os demais quartos em duas vacas, perfazendo um total de 24 amostras. As culturas de *M. bovis* isoladas apresentaram aspecto característicos de "ovo-frito", formação de filmes e manchas, foram positivas no teste de sensibilidade à digitonina, nas provas de IPI e RIFD e negativas na fermentação de glicose e hidrólise da arginina. Na presença de soro hiperimune anti-*M. bovis* o crescimento foi inibido no meio sólido de Hayflick modificado.

Quadro 1. Freqüência de animais com mastite clínica e subclínica e mastite clínica por *Mycoplasma bovis* em três rebanhos leiteiros da região norte do Estado do Paraná e sudoeste do Estado de São Paulo

Rebanhos	Animais (N°)	Animais com mastite (N°/%)	Animais com mastite por <i>M. bovis</i> (N°/% ^a)
A	75	22 / 29,33	3 / 13,63
B	575	95 / 16,52	3 / 3,15
C	63	20 / 31,74	2 / 10,00
Total	713	137 / 19,21	8 / 5,83

^aPorcentagem em relação ao número total de animais com mastite.

Os índices de mastite por *M. bovis* em diferentes países relatados por pesquisadores variam de 0,5 a 35% (Hale et al. 1962, Jasper et al. 1966, Gourlay et al. 1974, Gonzalez et al. 1988, Brown et al. 1990, Gonzalez et al. 1993). No presente trabalho 5,83% das infecções nos rebanhos foram causadas por *M. bovis*.

Todos os animais com mastite por *M. bovis* apresentaram edema, temperatura e sensibilidade do úbere aumentadas, além da queda brusca na secreção láctea. Sintomas semelhantes foram descritos por Jain et al. (1967), Boughton (1979) e Jasper (1982). Duas vacas que ficaram sob observação por seis meses apresentaram anorexia com perda progressiva de peso.

O leite oriundo das vacas com mastite por *M. bovis* mostrou alterações visíveis, sobrenadante líquido de coloração variando de amarelo a marrom e depósito de grumos. Alterações semelhantes no aspecto do leite também foram descritas por Bushnell (1984).

Os quatro animais medicados com oxitetraciclina e tilosina e um com enrofloxacin, não responderam ao tratamento. Estas vacas não recuperaram a produção, a infecção clínica persistiu e *M. bovis* foi reisolado de todos os quartos previamente infectados. Estes animais foram descartados num intervalo de três a quatro meses após a detecção da infecção intramamária. Os três animais restantes, tratados com

enrofloxacin não apresentaram novos episódios de mastite clínica aguda e recuperaram parcialmente a produção. Em duas destas vacas não ocorreu a cura bacteriológica, sendo *M. bovis* isolado por um período de seis meses, ocorrendo inclusive a disseminação do mesmo para os demais quartos. Estas vacas foram eliminadas no momento da secagem. Estes resultados confirmam a refratariedade das infecções intramamárias por *M. bovis* aos antibacterianos. Vários autores relatam resultados semelhantes, apesar de *M. bovis* apresentar sensibilidade *in vitro* a vários antibióticos como a tetraciclina, tilosina, danofloxacin e enrofloxacin, entre outros (Jasper 1981, Cooper et al. 1993, Gunning & Shepherd 1996, Mettifogo et al. 1996).

Em um animal, com recuperação quase integral da produção láctea, a infecção também persistiu por toda lactação. Esta vaca apresentou na lactação seguinte cura clínica e provavelmente bacteriológica, não tendo sido isolado *M. bovis* em três amostras consecutivas de leite. Este fato sugere a eliminação do agente no período seco. A eliminação de *M. bovis* da glândula mamária e a recuperação da secreção láctea foi relatada por Gonzalez et al. (1994).

M. bovis não foi isolado das secreções nasal e vaginal das vacas com mastite por micoplasma, mas foi isolado da secreção nasal de bezerros com pneumonia nas duas propriedades, o que sugere que o leite proveniente de vacas com mastite por *M. bovis* pode ter sido a fonte de infecção para os bezerros. Observações semelhantes foram relatadas por Gonzalez et al. (1993) e Byrne et al. (1998).

Com as medidas preventivas adotadas neste trabalho, sendo o descarte dos animais infectados por *M. bovis* a principal, foi possível evitar a disseminação do agente para outros animais. Os rebanhos permaneceram livres de infecções intramamárias por *M. bovis* durante o período da realização do estudo. Com estes procedimentos indicados para a prevenção da mastite contagiosa, vários autores também lograram controlar a mastite por *M. bovis* (Boughton 1979, Jasper 1982, Sasche et al. 1992, Gunning & Shepherd 1996).

Os resultados do presente trabalho demonstram a participação de *M. bovis* na etiologia das mastites contagiosas, a necessidade da implantação do diagnóstico para micoplasmas na rotina de laboratórios de bacteriologia e a possibilidade do controle das infecções.

REFERÊNCIAS

- Aska G. & Erno H. 1976. Evaluation of *Mycoplasma agalactiae* subs. *bovis* to species rank *Mycoplasma bovis* (Hale et al.) comb. nov. *Ins. J. Syst. Bacteriol.* 26:323-325.
- Bennet R.H. & Jasper D.E. 1977. Immunosuppression of humoral and cell mediated responses in calves associated with inoculation of *Mycoplasma bovis*. *Am. J. Vet. Res.* 38:1731-1738.
- Boothby J.T., Mueller R., Jasper D.E. & Thomas C.B. 1986. Detecting *Mycoplasma bovis* in milk by enzyme-linked immunosorbent assay, using monoclonal antibodies. *Am. J. Vet. Res.* 47:1082-1084.
- Boughton E. 1979. *Mycoplasma bovis* mastitis. *Vet. Bull.* 49:377-389.
- Brown M.B., Shearer J.K. & Elvington F. 1990. *Mycoplasma mastitis* in dairy herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196:1097-1101.
- Bushnell R.B. 1984. *Mycoplasma mastitis*. *Vet. Clin. North Am.* 6:301-312.
- Byrne W.J., Ball H.J., McCormack R. & Brice N. 1998. Elimination of *Mycoplasma bovis* mastitis from an Irish dairy herd. *Vet. Rec.* 142:516-517.
- Cooper A.C., Fuller J.R., Fuller M.K., Whittlestone P. & Wise D.R. 1993. *In vitro* activity of danofloxacin, tylosin and oxytetracycline against mycoplasmas of veterinary importance. *Res. Vet. Sci.* 54: 329-334.
- Gonzalez R.N., Jasper D.E., Farver E. & Bushnell R.B. 1988. Prevalence of udder infections and mastitis in 50 California dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 193:323-328.
- Gonzalez R.N., Jayarao B.M., Oliver S. P. & Sears P.M. 1993. Pneumonia, arthritis and mastitis in dairy cows due to *Mycoplasma bovis*. In: National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, p. 178-185.
- Gonzalez R.N., Sears P.M., Wilson D.J., Stuble A.M. & Hayes G.L. 1994. Can we manage *Mycoplasma bovis* infected herds without intensive culling? National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, p. 360-361.
- Gourlay R.N., Stott E.J., Espinasse J. & Barle C. 1974. Isolation of *Mycoplasma agalactiae* var. *bovis* and infectious bovine rhinotracheitis virus from outbreak of mastitis in France. *Vet. Rec.* 95:534-535.
- Gunning R.F. & Shepherd P.A. 1996. Outbreak of bovine *Mycoplasma bovis* mastitis. *Vet. Rec.* 139:23-24.
- Hale H.H., Helmboldt C.F., Plastring W.N. & Stula E.F. 1962. Bovine mastitis caused by a mycoplasma species. *Cornell. Vet.* 52:582-591.
- Imada Y., Ucida I. & Hashimoto K. 1987. Rapid identification of mycoplasmas by indirect immunoperoxidase test using small square filter paper. *J. Clin. Microbiol.* 25:17-21.
- Jain N.C., Jasper D.E. & Dellinger J.D. 1967. Cultural characteristic and serological relationships of some mycoplasmas isolated from bovine sources. *J. Gen. Microbiol.* 49:401-410.
- Jasper D.E., Jain N.C. & Brazil L.H. 1966. Clinical and laboratory observations on bovine mastitis due to *Mycoplasma*. *J. Am. Med. Vet. Assoc.* 148:1017-1029.
- Jasper D.E. 1981. Bovine mycoplasmal mastitis. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 25:121-152.
- Jasper D.E. 1982. The role of *Mycoplasma* in bovine mastitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 181:158-162.
- Jasper D.E. 1987. Bovine mastitis due to *Mycoplasma*. *Vet. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 6: 801-807.
- Langenegger J., Viani M.C.E. & Bahia M.G. 1981. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesq. Vet. Bras.* 1:47-52.
- Mettifogo E., Nascimento E.R., Müller E.E., Nascimento M.G.F. & Freitas J.C. 1996. Mastite bovina por *Mycoplasma bovis*. *Revta Bras. Med. Vet.* 18:22-25.
- Sachse K., Grajetzki C., Pfützner H., Hass R. 1992. Comparison of *Mycoplasma bovis* strains based on SDS-Page and immunoblot protein patterns. *J. Vet. Med. B.* 39:246-252.
- Sachse K., Pfützner H., Hotzel H., Demuth B., Heller M. & Berthold E. 1993. Comparison of various diagnostic methods for the detection of *Mycoplasma bovis*. *Rev. Sci. Tech. Off. Epiz.* 12:571-580.
- Whitford H.W., Rosebusch R.F. & Lauerman L.H. 1994. *Mycoplasmosis in Animals: Laboratory Diagnosis*. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 173p.