

Comunicação

[Communication]

Ocorrência, patógenos e fatores de risco para mastite subclínica em cabras leiteiras

[Occurrence, pathogens and risk factors for subclinical mastitis in dairy goats]

G.P. Machado¹, F.F. Guimarães², B.D. Menozzi², A. Salina², F.S. Possebon², H. Langoni^{2*}

¹Médico veterinário - Itápolis, SP

²Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Botucatu, SP

A mastite caprina é uma enfermidade complexa, que gera graves prejuízos econômicos devido ao descarte do leite, aos custos com medicamentos, à assistência veterinária, ao aumento de mão de obra, à redução da qualidade e da quantidade do leite e de seus subprodutos, além do risco para a saúde pública (Contreras *et al.*, 2007).

Estima-se que as perdas na produção de leite de cabras portadoras de mastite subclínica possam variar de 55 a 132kg de leite/ano e que possa haver uma redução de 3g de gordura/kg de leite por animal (Baudry *et al.*, 1997). Os agentes etiológicos são semelhantes aos da mastite bovina, como estafilococos coagulase-positivos (ECP), estafilococos coagulase-negativos (ECN), *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* sp. e algumas espécies de fungos menos frequentes (Peixoto *et al.*, 2012).

A prevenção e o controle são importantes e baseiam-se na adoção de medidas sanitárias nas propriedades, que devem ser aplicadas simultaneamente para redução das taxas de infecções subclínicas e clínicas, estando relacionadas principalmente aos aspectos higiênicos das glândulas mamárias durante a ordenha e das pessoas envolvidas nesse processo (Contreras *et al.*, 2007). Considerando-se a importância da caprinocultura e as perdas econômicas ocasionadas pelas mastites, objetivou-se estudar a ocorrência dessa enfermidade, bem como os principais agentes

isolados e os fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras leiteiras.

Foram coletadas amostras de leite de 257 cabras, perfazendo um total de 513 metades mamárias, de 10 propriedades leiteiras, localizadas em sete municípios do estado de São Paulo, Brasil. Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em pesquisa da Universidade Estadual Paulista (Protocolo n° 185/2010 – Ceua).

Para a coleta das amostras de leite, os tetos das cabras em lactação foram lavados previamente com água e secados com papel-toalha descartável. Após o descarte dos três primeiros jatos, foi realizada antisepsia do óstio do teto com algodão umedecido em solução de álcool 70%, e amostras de 10mL foram coletadas em duplicata, em frascos de vidro esterilizados, devidamente identificados, e mantidas em caixa isotérmica contendo gelo reciclável, até o momento da chegada ao laboratório, quando foram processadas. Realizou-se também o teste de *California Mastitis Test* (CMT), de todos os tetos, de acordo com Schalm e Noorlander (1957), sendo coletadas amostras para o exame microbiológico, independentemente do grau de positividade do teste.

As amostras de leite foram semeadas em duplicata, nos meios de ágar sangue ovino 5% e ágar MacConkey, mantidas a 37°C em aerobiose, por 72 horas, com leitura a cada 24 horas. As linhagens de micro-organismos de origem

Recebido em 13 de julho de 2017

Aceito em 17 de abril de 2018

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: hlangoni@fmvz.unesp.br

bacteriana foram identificadas segundo as características de cultivo, morfotintórias e bioquímicas (Quinn *et al.*, 1994).

Foi aplicado um questionário epidemiológico, sendo entrevistado o proprietário ou responsável pelos animais de cada propriedade. Avaliaram-se as condições gerais de manejo dos animais e higiene de ordenha. Foram considerados, ainda, os seguintes itens: produção leiteira (média diária), tipos de equipamentos de ordenha e de armazenamento do leite, manejo de ordenha, hábitos de higiene dos ordenhadores, medidas de diagnóstico e prevenção de mastite, prevalência de mastite clínica e/ou subclínica, rotina de tratamento utilizado nos animais com mastite, além da idade dos animais e número de lactações.

Nenhuma das propriedades rurais recebia assistência veterinária, e nenhum outro problema sanitário, reprodutivo ou nutricional foi observado nos rebanhos durante a coleta das amostras.

Estatísticas descritivas PROC FREQ e PROC MEANS do *Statistical Analysis Software – SAS* foram produzidas para caracterizar a população do estudo, descrever os agentes etiológicos causadores de mastite e estimar as ocorrências de mastite subclínica e clínica. O teste de qui-quadrado ou de Fisher PROC FREQ foi usado para testar a hipótese de que a ocorrência de mastite é heterogênea entre as fazendas.

Associações entre possíveis fatores de risco e a presença de mastite subclínica em nível de animal foram testadas por meio do teste de qui-quadrado. Como “propriedade” foi o principal fator de confusão na estimativa dessas associações, modelos de regressão logística PROC GENMOD (SAS, 2009) foram usados para produzir associações (estimadas usando-se a razão das chances) ajustadas por propriedade. Significância estatística foi definida como $P < 0,05$.

Os tamanhos das 10 propriedades rurais foram heterogêneos, variando entre 17 e 150 hectares, sendo a caprinocultura de leite, na sua totalidade, a atividade principal. O número total de cabras em lactação nas propriedades variou entre 20 e 160 animais. A idade variou entre dois e 6,5

anos, sendo 77,43% (199/257) Saanen e 22,57% (58/257) Anglo-Nubiana.

Todas as propriedades ordenhavam os animais duas vezes ao dia. A produção diária de leite dos rebanhos variou entre 30 e 120 litros, e a produção leiteira média do rebanho variou entre 0,75 e 2,94 litros. Com relação à fase de lactação: 31,52% (81/257) das cabras estavam na fase inicial, 59,92% (154/257) na intermediária e 8,56% (22/257) na final.

Foram examinadas, pelos testes de triagem (prova de Tamis e CMT), 257 cabras em lactação, perfazendo um total de 514 metades mamárias avaliadas, sendo apenas uma metade mamária perdida. Realizaram-se, portanto, exames microbianos em 513 amostras de leite.

Nenhuma amostra foi negativa ao CMT, bem como apresentou contaminação no exame microbiológico. Dessas amostras, 34,7% (178/513) revelaram crescimento bacteriano e 65,3% (335/513) se mostraram negativas. A prevalência de mastite subclínica pela lactocultura foi de 43,6% (112/257), e de mastite clínica 5,84% (15/257). Do total de amostras de leite, a porcentagem de mastite subclínica pela lactocultura foi de 34,7% (178/513) e de mastite clínica, 2,92% (15/513). Na mastite subclínica, obteve-se a média de 1,6 (178/112) metade mamária infectada por cabra.

A frequência de mastite subclínica e clínica em cabras e metades mamárias não foi homogênea entre as propriedades ($P < 0,01$), sendo a porcentagem de mastite subclínica na população de cabras variável entre 23,68% e 68% e nas metades mamárias entre 14,5% e 58,6%. Quanto aos casos clínicos nas cabras, esses variaram entre 4% e 34,28%, e nas metades mamárias entre 2% e 17,14%.

Os patógenos mais frequentes nas 513 amostras de leite foram: 132 (24%) ECN, 24 (4,7%) *S. aureus*, 14 (2,73%) *S. intermedius*, sete (1,4%) Enterobacteriaceae, três (0,6%) *Corynebacterium* spp., três (0,6%) *S. hyicus*, um (0,2%) *Streptococcus* spp., um (0,2%) *Micrococcus* spp., um (0,2%) *S. schleiferi* subsp. *coagulans* e um (0,2%) *S. lutrae*. Das 178 metades mamárias positivas, os patógenos isolados foram: 123 (70%) ECN, 24 (13,5%) *S. aureus*, 14 (7,9%) *S. intermedius* e sete (4%) Enterobacteriaceae.

A frequência de ECN nas propriedades variou entre 2,5% e 50%, *S. intermedius* entre 1,4% e 13,1%, *S. aureus* entre 1,3% e 12,9%, Enterobacteriaceae entre 1,6% e 5%, *Corynebacterium* spp. entre 2,2% e 2,5%, e *S. hyicus* entre 2,5% e 3,4%. A distribuição dos patógenos isolados das amostras de leite das

metades mamárias não foi homogênea entre as propriedades (P<0,01).

Os resultados das análises dos fatores de risco para mastite subclínica nos animais das 10 propriedades encontram-se na Tab. 1.

Tabela 1. Razão das chances (*Odds Ratio*) ajustadas para mastite subclínica em cabras leiteiras de acordo com variáveis obtidas em questionário epidemiológico

Variável	OR	IC(95%)OR	P
Tamanho da rebanho			0,0268
Até 38 animais		Ref. *	
> de 38 animais	3,33	1,25-10,00	
Raça			0,6768
Anglo-Nubiana		Ref.	
Saanen	1,33	0,31-6,25	
Local de ordenha			0,1519
Plataforma		Ref.	
Curral	4,02	0,51-31,82	
Fase de lactação			0,2500
Inicial	1,13	0,15-8,4	
Intermediária	2,5	0,71-100	
Final	-	Ref.	
Tipo de instalação			0,0794
Pasto		Ref.	
Confinado	3,33	0,84-13,23	
Tipo de ordenha			0,1405
Mecânica		Ref.	
Manual	2,8	0,66-11,82	
Lavagem dos tetos			0,4461
Sim		Ref.	
Não	1,55	0,44-5,44	
Secagem dos tetos com papel-toalha descartável ou pano esterilizado			0,4461
Sim		Ref.	
Não	1,55	0,44-5,44	
Pré-dipping			0,4461
Não		Ref.	
Sim	1,55	0,44-5,44	
Pós-dipping			0,4461
Não		Ref.	
Sim	1,55	0,44-5,44	
Tipo de secagem			0,4085
Abrupto	0,63	0,46-2,15	
Intermitente	1,58		
Ambiente período seco			0,3771
Confinado		Ref.	
Pasto	1,89	0,4-9,09	
Antibioticoterapia no período seco			0,5779
Sim		Ref.	
Não	1,4	0,38-4,97	

*Ref. = classe de referência.

A frequência de 43,6% de mastite subclínica nos animais avaliados está acima do encontrado por Neves *et al.* (2010), de 11,49% no estado da Paraíba, Langoni *et al.* (2012), de 12,5% nos estados de São Paulo e Minas Gerais e por Peixoto *et al.* (2012), de 29,06% no estado da Bahia. Segundo Contreras *et al.* (2007), a mastite subclínica predomina nos rebanhos de pequenos ruminantes, apresentando prevalência entre 5 e 30%, e pode alcançar taxas elevadas em determinadas situações de manejo.

As propriedades com maior ocorrência de mastite subclínica diferiram das propriedades com menores ocorrências nas seguintes características: os animais eram confinados, ordenhados manualmente e submetidos à secagem intermitente sem realização de antibioticoterapia neste período, sendo os casos de mastite clínica tratados apenas com antibioticoterapia via intramamária. Segundo Moroni *et al.* (2005), rebanhos com essas condições de manejo apresentam maior susceptibilidade para ocorrência e transmissão da doença entre os animais.

A ocorrência de mastite clínica na população de cabras foi superior ao mencionado na literatura (<5%), no entanto é normal que a prevalência eleve-se na ausência de um correto manejo higiênico-sanitário (Contreras *et al.*, 2007).

Das 513 amostras de leite das metades mamárias examinadas, 65,30% foram negativas. As culturas negativas podem estar relacionadas à ausência de infecção, nos casos de mastites assépticas, ou a agentes que exigem condições especiais para isolamento (Neves *et al.*, 2010). As análises microbiológicas demonstraram a ocorrência dos mais importantes patógenos das mastites nas 10 propriedades estudadas. Todos esses patógenos, com exceção dos ECP (*S. lutrae* e *S. scheleiferi* subsp. *coagulans*), já foram isolados no leite de cabra no Brasil por Mota *et al.* (2000), Silva *et al.* (2004), Langoni *et al.* (2006), Neves *et al.* (2010) e Peixoto *et al.* (2012).

As propriedades que apresentaram as maiores ocorrências de mastite subclínica nas metades mamárias e os maiores percentuais de isolamento de ECN mantinham os rebanhos em confinamento e realizavam ordenha manual. Essas características podem favorecer a infecção

da glândula mamária, pois dentro dos ECN estão algumas espécies comensais da pele dos animais, das mucosas e mãos dos ordenhadores, as quais são relativamente estáveis no ambiente e podem causar mastite contagiosa (Oliveira *et al.*, 2011).

A elevada ocorrência de ECN (23,98%) corrobora os estudos de Silva *et al.* (2004), Langoni *et al.* (2006) e Oliveira *et al.* (2011), sendo os ECN importantes patógenos de mastite subclínica caprina nos diferentes sistemas de criação. As infecções por ECN são mais compatíveis com a ausência de manifestações clínicas nos animais e constituem agentes significativos das mastites subclínicas em cabras.

Staphylococcus aureus foi o ECP mais frequente, destacando-se como causador de mastite contagiosa, sendo de difícil tratamento devido à sua elevada resistência. Destacam-se, ainda, os riscos para a saúde pública pela produção de toxinas termorresistentes. As outras espécies de ECP isoladas no presente estudo (*S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. lutrae* e *S. scheleiferi* subsp. *coagulans*) são menos frequentes nas mastites (Kyozaire *et al.*, 2005).

As bactérias do gênero *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. e da família Enterobacteriaceae são encontradas com menor frequência nas mastites caprinas (Contreras *et al.*, 2007), o que está de acordo com o presente estudo.

A análise dos fatores de risco revelou que o tamanho do rebanho foi estatisticamente associado à ocorrência da mastite subclínica, visto que os casos de mastite foram 3,33 vezes mais frequentes em rebanhos maiores (com mais de 38 animais) do que em rebanhos menores (menos de 38 animais). Propriedades com rebanhos maiores tendem a apresentar maior prevalência de mastite, em decorrência da dificuldade na execução das atividades de controle e profilaxia de rotina contra a doença (Peixoto *et al.*, 2012).

Durante a modelagem estatística para os fatores de risco, a propriedade foi um evidente fator de confusão. Isso pode ser relacionado à existência de peculiaridades em características de manejo, produção e instalações que afetam as associações entre a presença de mastite subclínica e as demais variáveis abordadas no questionário

epidemiológico, de modo que o efeito da propriedade foi mantido no modelo estatístico e as razões das chances reportadas foram ajustadas para tal fator. Não foi verificada nenhuma outra associação significativa para as outras variáveis do questionário epidemiológico. Deve-se ressaltar a limitação do número de propriedades avaliadas para a realização de associações estatísticas mais robustas e possíveis fatores de confusão não contemplados e avaliados por este estudo.

Apesar da não identificação de todos os fatores associados à mastite subclínica nos rebanhos e da existência de fatores de confusão que dificultam as análises estatísticas, o estudo dos fatores de risco é importante para o aprimoramento dos

programas de controle e prevenção da doença na caprinocultura leiteira e pode ser utilizado como ferramenta na diminuição de patógenos ambientais e contagiosos, como os estafilococos, que foram os patógenos causadores de mastite caprina mais identificados neste estudo.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pela concessão de bolsa de doutorado (2010/17254-7) e de auxílio à pesquisa (2011/07107-0).

Palavras-chave: mastite caprina, qualidade do leite, epidemiologia, fatores de risco

ABSTRACT

Milk samples from 257 goats and 513 half udders of 10 dairy goat farms were analyzed by microbiological culture, to evaluate the sanitary management, and epidemiological questionnaire results. Multivariate analysis of risk factors for subclinical mastitis in goats, with the adjusted Odds Ratio for subclinical mastitis was performed. The prevalence of subclinical mastitis in goats by microbiological culture was 43.6%, and clinical mastitis was 5.84%. From 178 positive teats by microbiological culture, the most prevalent pathogens were coagulase-negative staphylococci - CNS (70%), S. aureus (13.5%), S. intermedius (7.9%), and Enterobacteriaceae (4%). The risk factors analysis revealed significant association between the disease and the flock size (OR= 3.33; P= 0.0268), and the farm was a confounding factor, being kept in the final statistical model. Despite the non-identification of all the factors associated with subclinical mastitis in herds and the existence of confounding factors that hinder statistical analyzes, the study of risk factors is important for the improvement of disease control and prevention programs in dairy goat, and it can be used as a tool in the reduction of environmental and contagious pathogens such as staphylococci that were the most identified pathogens causing caprine mastitis in the study.

Keywords: goat mastitis, milk quality, epidemiology, risk factors

REFERÊNCIAS

- BAUDRY C.; DE CREMOUX, R.; CHARTIER, C; PERRIN, G. Impact of the cellular concentration of milk in goats on its production and its composition. *Vet. Res.* v.28, p.277-286, 1997.
- CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SANCHEZ, A. et al. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Res.*, v.68, p.145-153, 2007.
- KYOZAIRE, J.K.; VEARY, C.M.; PETZER, I.M.; DONKIN, E.F. Microbiological quality of goat's milk obtained under different production systems. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, v.76, p.69-73, 2005.
- LANGONI, H.; CITADELLA, J.C.C.; MACHADO, G.P. *et al.* Aspectos microbiológicos e citológicos do leite na mastite caprina subclínica. *Vet. Zootec.*, v.19, p.815-822, 2012.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; LUCHEIS, S.B. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v.13, p.51-54, 2006.
- MORONI, P.; PISONI, G.; RUFFO, G.; BOETTCHER, P.J. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. *Prev. Vet. Med.*, v.69, p.163-173, 2005.

MOTA, R.A.; DE CASTRO, F.J.C.; DA SILVA, L.B.G.; OLIVEIRA, A.A.F. Etiologia e sensibilidade a antimicrobianos in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *Hora Vet.*, v.19, p.26-29, 2000.

NEVES, P.B.; MEDEIROS, E.S.; SÁ, V.V. *et al.* Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.30, p.379-384, 2010.

OLIVEIRA, C.J.B.; HISRICH, E.R.; MOURA, J.F.P. *et al.* On farm risk factors associated with goat milk in Northeast Brazil. *Small Ruminant Res.*, v.98, p.64-69, 2011.

PEIXOTO, R.M.; AMANSO, E.S.; CAVALCANTE, M.B. *et al.* Fatores de risco para mastite infecciosa em cabras leiteiras criadas no estado da Bahia. *Arq. Inst. Biol.*, v.79, p.101-105, 2012.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K.; CARTER, G.R. *Mastitis*. In: QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K.; CARTER, G.R. (Eds.). *Clinical veterinary microbiology*. London: Wolfe Publishing, 1994. p.327-344.

SAS Institute. SAS/STAT User's Guide. Version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, 2009.

SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.130, p.199-204, 1957.

SILVA, E.R.; SIQUEIRA, A.P.; MARTINS, J.C.D. *et al.* Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. *Small Ruminant Res.*, v.55, p.45-49, 2004.