

ETIOLOGIA E TRATAMENTO DAS MASTITES BOVINAS COM AUXÍLIO DO DIMETILSULFÓXIDO (DMSO)¹

HÉLIO LANGONI², CÉLIA N.M. CORREA², WALTER M. CORREA² E EDNEI L.C. CARREIRA²

ABSTRACT.- Langoni H., Correa C.N.M., Correa W.M. & Carreira E.L.C. 1983 [Etiology and treatment of bovine mastitis with the help of dimethyl sulfoxide.] Etiologia e tratamento das mastites bovinas com o auxílio do dimetilsulfóxido. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 4(1):1-4. Fac. Med. Vet. e Zootec., UNESP, Campus de Botucatu, Cx. Postal 523, Rubião Junior, SP 18610, Brazil.

A study was performed in 2 dairy farms on the etiology of bovine mastitis, its control by sanitary measures as well as by treatment with drugs, alone or in combination with dimethyl sulfoxide (DMSO). Staphylococci, streptococci and coliform bacteria were responsible for 79,7% of the cases of mastitis; staphylococci alone caused 55,6%. The measures adopted reduced levels of mastitis from 38 and 21% respectively to 2,7 and 3,1% on the 2 farms. Statistical analysis showed that the combination of drugs with 20% DMSO significantly improved treatments with nitrofurantoin ($P < 0.01$), chloranphenicol ($P < 0.05$) and penicilin+streptomycin ($P = 0,1 - 0,2$), recommending the use of DMSO as vehicle for drugs in the treatment of mastitis.

INDEX TERMS: Mastitis control, Dimethyl sulfoxide.

SINOPSE.- Em duas granjas leiteiras procedeu-se à Pesquisa sobre a etiologia das mastites bovinas, seu controle por medidas de manejo sanitário e terapêutico com drogas comuns e por sua associação ao dimetilsulfóxido (DMSO), durante 9 trimestres. Os principais agentes foram estafilococos, estreptococos e bactérias coliformes que foram responsáveis por 79,7% dos casos, devendo-se aos estafilococos 55,6% das mastites. As medidas adotadas reduziram as taxas de mastites de 38 e 21% respectivamente, para 2,7 e 3,1% em ambas as granjas. A análise estatística mostrou que a associação das drogas ao DMSO a 20% melhorou o índice de curas, com significância ($P < 0,01$) para o furacil, ($P < 0,05$) para o cloranfenicol e ($P = 0,1 - 0,2$) para a penicilina+estreptomomicina, recomendando seu uso como veículo para drogas antimastíticas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mastites, controle, Dimetil sulfóxido.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é a mais importante afecção do gado leiteiro, do ponto de vista econômico e sanitário, sendo comumente causada por diferentes bactérias, fungos e vírus como evidenciam os resultados obtidos por Fleming (1962), Richter et al. (1962), Renk (1968), Schalm et al. (1971), Schlotthauer (1974), Barnes (1955), Merchant e Packer (1975), Blood et al. (1979), Bramley et al. (1979 a, b), Correa e Correa (1979) e Gillespie e Timoney (1981), havendo casos de grande interesse em saúde pública, como indica van der Hoeden (1964).

Na etiopatogenia das mastites, além dos agentes, têm grande importância as causas predisponentes como traumas, manejo, ordenhadeiras, higiene do estábulo e do ordenhador, quantidade de leite produzida pela vaca, clima e alimentação entre outras, como citam Jasper (1980) e Brown (1975).

Ocorrem também modificações biológicas introduzidas pelo homem, quanto aos agentes bacterianos das mastites, principalmente pelo surgimento de raças resistentes às drogas terapêuticas, como apontam Gillespie e Timoney (1981).

No combate às mastites, devem ser considerados inicialmente as medidas gerais de higiene e profilaxia e o uso de formulações antimastíticas ao final da lactação, ou seja, ao secar a vaca, como indicam Natykes (1975), Postle (1975), Hayward e Webster (1979), Blood et al. (1979), Correa e Correa (1979) e Gillespie e Timoney (1981).

No Brasil, as mastites vêm sendo continuamente estudadas, destacando-se, nos últimos vinte anos, vários trabalhos como os de Fernandes et al. (1973), Ferreira et al. (1979), Figueiredo (1962), Harrop et al. (1975), Langenegger et al. (1970, 1981) e Rogick et al. (1964).

Reconhecendo-se o valor do manejo higiênico do rebanho leiteiro, a variação da flora bacteriana como fator determinante da contínua incidência de mastites e a necessidade de suplantar fatores de resistência dos agentes às drogas terapêuticas é que foi planejado este trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho desenvolveu-se em nove trimestres consecutivos durante 1978, 1979 e 1980, em duas granjas leiteiras da Cooperativa de Laticínios de Sorocaba, São Paulo, identificadas como A e B que mantêm aproximadamente 50 e 100 vacas em lactação.

Essas granjas comercializam leite do tipo B, tendo estábulos higiênicos, ordenha mecânica, asseio das vacas e dos ordenhadores antes da

¹ Aceito para publicação em 28 de junho de 1983.

² Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, Fac. Med. Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, Cx. Postal 523, Rubião Junior, São Paulo 18610.

ordenha, uso de caneca telada com fundo escuro para exame físico do leite antes da ordenha, enfim, boas condições de higiene geral.

Não constavam da rotina de trabalho o uso periódico de uma prova químico-clínica para a descoberta de mastites sub-clínicas, o rodízio terapêutico trimestral das drogas antimastíticas nem o tratamento das vacas ao secar; instituiu-se esse tipo de manejo profilático, escolhendo o método de Whiteside para exame trimestral de todas as vacas em lactação, conforme recomendado por Murphy e Hanson (1941).

As amostras de leite eram colhidas na ordenha da manhã, logo após a higienização do úbere por lavagem com água, desinfecção com iodóforo comercial, secagem com guardanapo de papel e observação dos dois primeiros jatos de leite na caneca telada, sendo recolhido o terceiro jato em frasco de tipo penicilina, estéril, que era imediatamente tapado, rotulado e identificado com o número da vaca e do quarto mamário correspondente, sendo a seguir refrigerado e levado para o laboratório ainda no período matinal.

No laboratório procedia-se à prova de Whiteside, cultivando-se 0,1 ml das amostras positivas em meio de ágar-sangue e Levine, incubando-se a 37°C.

Nessas condições foram cultivadas 471 amostras de leite positivas à prova de Whiteside e 63 outras de leite cujo processo mastítico não cedeu ao primeiro tratamento, no total de 534 cultivos.

Após 24 e 48 horas de incubação observava-se a morfologia das colônias crescidas; a seguir preparavam-se lâminas coradas pelo método de Gram para verificar ao microscópio a morfologia bacteriana e, finalmente, repicavam-se os microrganismos isolados para caldo-cérebro-coração, a fim de obter mensturo para proceder às provas taxonômicas de acordo com os métodos preconizados por Buchanan e Gibbons (1975) e Carter (1979).

Paralelamente, as bactérias isoladas eram submetidas a antibiograma em meio de ágar-cérebro-coração ou ágar-sangue, sendo usados discos de cloranfenicol (30 µg), penicilina (10 UI), estreptomocina (10 µg) e nitrofurantoína (300 µg), medindo-se o halo de inibição e interpretando-se a prova como recomendado por Thornsberry e Hawkins (1977).

As formulações terapêuticas para uso por um trimestre cada, foram, consecutivamente: a) penicilina 100.000 UI mais estreptomocina 200 mg; b) furacin 70 mg e c) cloranfenicol 100 mg, de forma que essas doses fossem contidas em 10 ml de água destilada e, alternativamente, em DMSO a 20% em água destilada.

As vacas que tiveram mastite clínica revelada pela prova da caneca telada e as que tiveram mastite subclínica descoberta pela prova trimestral de Whiteside receberam tratamento, alternadamente pela fórmula sem DMSO e com DMSO, isto é, se a primeira vaca foi tratada com penicilina + estreptomocina, a segunda foi tratada com a mesma fórmula veiculada em DMSO. Por essa razão o número de tratamentos com cada droga não foi igual, pois o número de quartos mastíticos era variável em cada vaca.

Os quartos mamários que produziram leite mastítico foram tratados uma vez por dia, por três dias consecutivos; dez dias após colhia-se nova amostra de leite para prova de Whiteside. Se as amostras davam resulta-

do negativo as vacas eram consideradas como curadas; quando davam resultado positivo, elas eram cultivadas como já descrito e as bactérias isoladas eram submetidas a novo antibiograma, mudando-se a droga terapêutica se necessário, porém, todas as vacas foram acompanhadas até se obter a cura dos quartos mastíticos.

Os resultados dos tratamentos sem e com DMSO foram submetidos a análise estatística, calculando-se o X^2 da diferença entre duas médias com correção de continuidade, contrastando tetos curados contra não curados, em tabelas de dupla entrada. Foi também calculado o coeficiente de associação de Zeisler, para verificar-se se havia associação da cura com o uso do DMSO.

RESULTADOS

No Quadro 1 estão relacionados os agentes patogênicos e potencialmente patogênicos isolados de amostras de leite mastítico. É interessante notar que os estafilococos são responsáveis por 55,6% das mastites, vindo a seguir *Escherichia coli* e os estreptococos do grupo agalactiae como importantes agentes.

Quadro 1. Percentuais de agentes de mastites no leite

Microrganismos	Granja A	Granja B
<i>Corynebacterium bovis</i>	4,2	10,0
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	3,1	1,9
<i>Escherichia coli</i>	19,8	10,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	—	0,5
<i>Micrococcus sp.</i>	2,0	9,9
<i>Pasteurella multocida</i>	—	2,5
<i>Salmonella sp.</i>	3,1	2,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	39,9	33,6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	17,7	20,4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6,1	1,9
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1,0	—
<i>Streptococcus uberis</i>	3,1	3,3
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	—	2,9
Total	100,0%	100,0%

O Quadro 2 mostra os resultados dos tratamentos com e sem DMSO, expressando-os como número de quartos curados e não curados pelo primeiro tratamento realizado.

O Quadro 3 mostra a evolução, no tempo, da taxa de incidência de mastites, devendo observar-se que na granja A, essa taxa foi diminuída de 38% para 2,7% e na granja B, de 21% para 3,1%.

Quadro 2. Resultados dos tratamentos de mastites nas granjas A e B

Local	Furacin Sol.				Penicilina + Estreptomocina				Cloranfenicol			
	S/DMSO		C/DMSO		S/DMSO		C/DMSO		S/DMSO		C/DMSO	
	C ^(a)	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC
Granja A	46	10	63	07	39	11	51	08	41	03	37	0
Granja B	17	13	38	05	15	02	29	0	16	04	16	0
Nº Total	63	23	101	12	54	13	80	08	57	07	53	0
% de curas	73	27	89	11	81	19	91	09	89	11	100	0

(a) C = curados, NC = não curados.

ETIOLOGIA E TRATAMENTO DAS MASTITES BOVINAS

Quadro 3. Taxas trimestrais (%) de infecção das vacas das granjas A e B

Trimestres	Granja A	Granja B
1º	38,0	21,0
2º	14,0	11,0
3º	10,0	3,0
4º	4,9	7,4
5º	4,8	3,2
6º	4,8	7,4
7º	3,5	3,7
8º	3,3	4,0
9º	2,7	3,1

Observando-se o Quadro 2 verifica-se que o furacin sem DMSO curou 73% dos quartos e com DMSO curou 89%; nas mesmas condições, a penicilina+estreptomicina curou 81% e 91% e o cloranfenicol, 89% e 100%, respectivamente.

O X^2 para os tratamentos com e sem associação ao DMSO foi para o furacin, $X^2 = 7,7$, significante a 0,01; para cloranfenicol, $X^2 = 4,4$, significante a 0,05, e para penicilina+estreptomicina, $X^2 = 2,6$, significante somente entre 0,10 e 0,20.

O índice de Zeisler para a cura percentual pelas formulações com DMSO foi, para o furacin, $Z = 0,39$; para o cloranfenicol, $Z = 0,74$, e para a penicilina+estreptomicina, $Z = 0,32$, todos mostrando haver associação entre a cura e o uso do DMSO nas formulações.

DISCUSSÃO

A literatura nacional sobre mastites, de vinte anos para cá, mostra que os agentes mais comuns são os estafilococos, seguidos pelos estreptococos do grupo agalactiae (Fernandes et al. 1973, Ferreiro et al. 1979, Figueiredo 1962, Harrop et al. 1975, Langenegger et al. 1970, 1981, Rogick et al. 1964).

Os dados deste trabalho, conforme o Quadro 2, são concordes em que os estafilococos são os principais agentes causadores de mastites, porém, neste caso *Escherichia coli* foi o segundo agente e em terceiro lugar vieram os estreptococos do grupo agalactiae.

O Quadro 2 mostra que o uso de DMSO a 20% como veículo do furacin e cloranfenicol é interessante na prática, aumentando as curas de 73 para 89% e de 89 para 100%, respectivamente, e que sua associação à penicilina+estreptomicina, elevou-se de 81 para 91%, o que sugere recomendar a associação.

O Quadro 3 revela que em nove trimestres conseguiu-se baixar o índice de incidência de mastites para cerca de 3%, o que é excelente índice de sanidade, mesmo comparado aos níveis dos E.U.A., com 7%, e de países europeus, conforme se pode ver em Jasper (1980).

Os baixos percentuais de vacas mastíticas ao final do tempo de trabalho nas granjas deveram-se às apropriadas medidas de higiene em geral, veterinária preventiva, esclarecimento e conscientização do pessoal, porém, foi o tratamento adequado que fez diminuir as mastites que originalmente incidiam nos rebanhos.

REFERÊNCIAS

- Barnes L.E. 1955. Four cases of bovine mastitis caused by *Klebsiella pneumoniae*. J. Am. Vet. Med. Ass. 125: 50-54.
- Blood D.C., Henderson J.A. & Radostits O.M. 1979. Veterinary Medicine. 5th ed. Baillière Tindall, London. 1135 p.
- Bramley A.J., King J.S., Higgs T.M. & Neave F.K. 1979a. Colonization of the bovine teat duct following inoculation with *Staphylococcus aureus* and *E. coli*. Brit. Vet. J. 135: 149-171.
- Bramley A.J., King J.S. & Higgs T.M. 1979b. The isolation of *Streptococcus uberis* from cows in two dairy herds. Brit. Vet. J. 135: 262-270.
- Brown R.W. 1975. Alimentazione e mastiti cliniche da *Streptococcus agalactiae*. Selezione Vet. 16: 146-152.
- Buchanan R.E. & Gibbons N.E. 1975. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Williams & Wilkins, Baltimore. 1268 p.
- Carter G.R. 1979. Diagnostic procedures in veterinary microbiology. 3rd ed. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois. 484 p.
- Correa, W.M. & Correa C.N.M. 1979. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. J.M. Varela, São Paulo. 823 p.
- Fernandes J.C.T., Moojen V. & Ferreiro L. 1973. Agentes etiológicos das mastites bovinas na bacia leiteira de Porto Alegre, RS, Brasil. Arqs Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, 1: 41-46.
- Ferreiro L., Souza E.P.L. & Novy E.F. 1979. Influência da mastite bovina subclínica na produção de leite de gado mestiço. Arqs Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, 7: 135-143.
- Figueiredo J.B. 1962. Estudo sobre a mamite bovina no município de Betim, MG. Arqs Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 14: 257-295.
- Fleming L.W. 1962. Studies on bovine staphylococcal mastitis. Cornell Vet. 52: 350-362.
- Gillespie J.H. & Timoney J.F. 1981. Hagan's-Bruner infectious diseases of domestic animals. 7th ed. Comstock, Cornell Univ., Ithaca, New York. 851 p.
- Harrop M.H.V., Pereira L.J.G., Brito J.R.F. & Mello A.M. 1975. Incidência da mastite bovina na bacia leiteira da zona do agreste meridional de Pernambuco. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 10: 65-67.
- Hayward P.J. & Webster A.W. 1979. A programme approach to mastitis control. New Zealand J. Dairy Sci. Technol. 12: 267-269.
- Jasper D.E. 1980. Mastitis, p. 1049-1091. In: Amstutz H.E., Bovine medicine and surgery. 2nd ed. American Veterinary Publications, Santa Barbara, California.
- Langenegger J., Coelho N.M., Langenegger C.H. & Castro R.P. 1970. Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet., 5: 437-440.
- Langenegger J., Viani M.C.R. & Bahia M.G. 1981. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. Pesq. Vet. Bras. 1: 47-52.
- Merchant I.A. & Packer R.A. 1975. Bacteriologia y virologia. 3ª ed. Acribia, Zaragoza, España. 708 p.
- Murphy J.M. & Hanson J.J. 1941. A modified Whiteside test for detection of chronic bovine mastitis. Cornell Vet. 31: 47-55.
- Natykes S. 1975. Risultati della disinfezioni dei capezoli e della terapia in asciuta. Selezione Vet. 16: 24-28.
- Postle D. 1975. Efficacia di alcuni preparati nella terapia della vacche in asciuta. Selezione Vet. 16: 427-449.
- Renk W. 1968. Etiologia, patogenia y morfologia de las mastitis bovinas. Noticias Med. Vet. Bayer 2: 150-168.

- Richter F., Corleto J., Kubes V., Correa W.M. & Andrino R. 1962. Flora bacteriana de la leche de vacas clinicamente normales y las mastiticas. *Revta Univ. S. Carlos, Guatemala*, 57: 177-182.
- Rogick F.A., Porto E. & Gonçalves M. 1964. A mastite subclínica no rebanho produtor de leite tipo B. *Bolm Ind. Anim., São Paulo* 22: 91-120.
- Schalm O.W., Carrol E.J. & Chain N.C. 1971. *Bovine mastitis*. Lea and Febiger, Philadelphia. 360 p.
- Schlotthauer C.F. 1974. Bovine mastitis. Its etiology, diagnosis and treatment. *North Am. Vet.* 25: 84-90.
- Thornsberry C. & Hawkins T.M. 1977. Agar disc diffusion susceptibility testing procedure. U.S. Dept. Health, Educ. Welfare, Public Health Serv., Center for Disease Control, Atlanta, Georgia.
- Van der Hoeden J. 1964. *Zoonoses*. Elsevier, Amsterdam. 800 p.