

**MASTITE SUBCLÍNICA – AVALIAÇÃO DA “PROVA DE
WHITESIDE MODIFICADA” E DO CMT (CALIFORNIA
MASTITIS TEST), COMO MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO
INDIRETO, PELA COMPARAÇÃO COM O EXAME
BACTERIOLÓGICO**

MASTITE SUBCLÍNICA - AVALIAÇÃO DA "PROVA DE
WHITESIDE MODIFICADA" E DO CMT (CALIFORNIA
MASTITIS TEST), COMO MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO
INDIRETO, PELA COMPARAÇÃO COM O EXAME
BACTERIOLÓGICO

José Tiago Campos Garcia, Med. Vet.

Wilmar Camargo de Farias.

COMITÊ DE PUBLICAÇÕES DA UEPAE/BAGÉ, RS.
BR 153 - KM 141 - CAIXA POSTAL 242
96400 - BAGÉ, RS.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual
de Bagé, RS.

Mastite subclínica - Avaliação da "Prova de Whiteside
de Modificada" e do CMT (California Mastitis Test), como
métodos de diagnóstico indireto, pela comparação com o
exame bacteriológico {por} José Tiago Campos Garcia {e}
Wilmar Camargo de Farias. Bagé, 1982.

16p. (EMBRAPA/UEPAE/BAGÉ. Boletim de Pesquisa, 01).

1. Mastite - Avaliação. 2. Mastite - Diagnóstico. 3.
Prova de "Whiteside Modificada" - Avaliação. 4. CMT (Ca
lifornia Mastitis Test) - Avaliação. I. Garcia, José Ti
ago Campos. II. Farias, Wilmar Camargo de. III. Título.
IV. Série.

CDD- 636.08842

SUMÁRIO

RESUMO	1
INTRODUÇÃO	2
Definição e Conceito	2
Diagnóstico	3
MATERIAL E MÉTODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	11
AGRADECIMENTOS	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

MASTITE SUBCLÍNICA - AVALIAÇÃO DA "PROVA DE WHITESIDE MODIFICADA" E DO CMT (California Mastitis Test), COMO MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO INDIRETO, PELA COMPARAÇÃO COM O EXAME BACTERIOLÓGICO

José Tiago Campos Garcia*

Wilmar Camargo de Farias**

RESUMO

Enfatiza-se a diferença nítida e clara que existe entre as mastites clínica e subclínica. São mencionados os principais métodos conhecidos para diagnóstico indireto da mastite subclínica, destacando-se a "Prova de Whiteside Modificada" e o teste de "CMT" como sendo os mais exequíveis para as nossas condições, dada a simplicidade e relativa efetividade de ambos. No rebanho de gado de leite da raça holandesa, pertencente a UEPAE "Cinco Cruzes" de Bagé - EMBRAPA, foi realizada uma avaliação de ambos os métodos envolvendo 50 vacas em lacta

* Méd. Vet. Pesquisador da EMBRAPA - UEPAE/BAGÉ, RS.

** Estagiário concluinte do Curso de Medicina Veterinária, FAT-FUnBa, em estágio regulamentar do curso, no Programa Bovinos de Leite da UEPAE/BAGÉ, RS.

ção em 1980 e outras 50 em 1981, perfazendo um total populacional de 400 quartos utilizados. Tomando-se o exame bacteriológico, como ponto de referência, encontrou-se um percentual de coincidência de 50% para o CMT e 85% para a Prova de Whiteside. Com base nestes resultados e na bibliografia pertinente ao assunto, são feitas algumas recomendações de ordem prática.

INTRODUÇÃO

Mastite ou mamite constituem termos genéricos em clínica médico-veterinária. São designações que não de finem, por si só, qual a entidade nosológica que se apresenta. Há uma fronteira bem delimitada entre uma mastite clínica e uma mastite subclínica, também chamadas de aguda e crônica, respectivamente, embora estas constituam de signações já em desuso.

Definição e Conceito

As mastites clínica e subclínica guardam entre si diferenças claras de apresentação, sintomas, diagnóstico, prognóstico e terapêuticas, constituindo duas síndromes que merecem ser encaradas de forma distinta, embora uma possa evoluir ou regredir no sentido da outra, de forma recíproca. Na mastite subclínica pode haver uma infecção sem inflamação ou uma inflamação sem infecção, tão

discretas, que não chegam a ser denunciadas por sintomas clínicos perceptíveis. Daí porque, não sendo detectada pelo exame clínico, passou a ser assim designada (Schmidt & Van Vleck 1976; Helguera 1976; Leplatre 1977).

Essa distinção é fundamental tanto para efeito de tratamento quanto para fins profiláticos. Uma mastite clínica deve ser tratada imediatamente após sua apresentação sob pena de tornar-se irreversível, com perda do quarto afetado. A mastite subclínica requer uma identificação prévia de sua etiologia, a nível de laboratório, para efeito de tratamento correto. Além disso, esse deve ser um procedimento de caráter coletivo, em termos de rebanho, e não apenas individual. Convém destacar, ainda, que a terapia em casos de mastite subclínica e a nível de rebanho, deve ser procedida, preferencialmente, no período de secagem.

"O momento mais lógico para tratar quartos infectados é durante o período seco" (Schmidt & Van Vleck 1976).

Diagnóstico

"Facilmente se diagnostica a mastite aguda. Mas a forma crônica, muito mais freqüente, não se reconhece com facilidade", segundo Brow Jr, citado por Silva F? & Porto (1964).

O diagnóstico da mastite subclínica apresenta dificuldades tanto a nível de estábulo quanto a nível de laboratório. O leite oriundo de um quarto afetado e nem mesmo esse quarto denotam quaisquer alterações visíveis que possam denunciar a doença, (Rogick, Porto e Gonçalves 1964; Silva Fº e Porto 1964; Hipolito, Freitas e Figueiredo 1965).

Algumas vezes, quando parte da glândula sofreu alterações histológicas em virtude de uma inflamação anterior, podem ser notados alguns nódulos ou áreas de induração localizadas ou disseminadas pelo parenquima. Isso se deve a que uma mastite clínica pode regredir no sentido de uma mastite subclínica, seja em face de um tratamento com cura parcial ou de uma autocura com o mesmo grau. Em sentido contrário, também uma mastite subclínica poderá evoluir para uma mastite clínica diante de certas circunstâncias, como é o caso de uma ordenha incompleta ou qualquer outro fator de irritação glandular.

Existem vários testes e provas para exame do leite aparentemente normal, tanto a nível de estábulo quanto em laboratório, para o diagnóstico direto e indireto da mastite subclínica. Com exceção do exame histopatológico, da cultura de amostras e da bacterioscopia de esfregaços corados por métodos especiais, quase todas as demais provas são de natureza indireta já que pesquisam a presença de alterações químicas ou físicas que denun-

ciam alterações glandulares.

Dentre as provas indiretas conhecidas podem ser citadas a contagem global de leucócitos, (Prescott & Breed), a Prova de Whiteside Modificada por Murphy & Hanson, o CMT (California Mastitis Test) desenvolvido por Schalm & Noorlander, o Negretti Field Test (NFT), o Michigan Mastitis Test (MMT), o Wisconsin Mastitis Test (WMT), (Thompson & Postle), a Prova de Hotis e a Prova de Catalase, citados por Hipolito, Freitas & Figueiredo (1965) e Coelho (1974).

Praticamente, todas as provas chamadas indiretas, baseiam-se, fundamentalmente, em três aspectos físicos-co-químicos do leite anormal:

alteração do pH

aumento da taxa de leucócitos

aumento da taxa de cloretos

Algumas dessas provas contemplam apenas um desses aspectos, como sejam, o papel indicador para determinação do pH, reagentes especiais para indicar um aumento na taxa de cloretos, ou, a contagem celular para determinar o número total de células ou de leucócitos por ml de leite.

Ao longo do tempo, entretanto, a Prova de Whiteside e o CMT, permaneceram como os testes mais utilizados, talvez pelas suas características de simplicidade e praticabilidade a nível de estábulo.

O CMT ou o Whiteside são recomendados por Schalm (1963) para todas as vacas em lactação e a intervalos mensais, no sentido de indicar o estado de cada úbere bem como o tratamento devido no período de secagem.

O método de Whiteside Modificado e as provas culturais conjuntamente empregadas, são técnicas recomendadas para diagnóstico das mastites e servem como base para o tratamento e profilaxia da infecção (Rogick, Porto e Gonçalves, 1964).

Comparando a Prova de Whiteside com outras provas indiretas para detectar os menores graus de irritação da glândula mamária, Silva F^o e Porto (1964) observaram maior capacidade da mesma para esse diagnóstico.

O CMT destacou-se entre todas as provas e testes até agora desenvolvidos, justamente, por abranger as alterações principais do leite anormal e também, graças à sua simplicidade e rapidez, podendo ser executado ao pé da vaca em pleno estábulo e durante a ordenha. As restrições que apresenta são comuns a todos os demais testes já que tanto no início como no fim da lactação o leite pode apresentar, fisiologicamente, essas alterações físico-químicas.

Embora não podendo constituir uma prova conclusiva para diagnóstico de uma mastite subclínica, não deixa de ser um excelente instrumento de avaliação do grau de irritação existente nos quartos em lactação.

Comparado frente a outros testes conhecidos, tendo o isolamento do germe e sua identificação como diagnóstico padrão, o CMT se mostrou superior à contagem de leucócitos, à determinação do pH, às provas de Whiteside e de Hotis e a pesquisa de Catalase, sendo inferior ao método bacterioscópico (Figueiredo), segundo Hipolito et al. (1965).

O método do CMT é um método de diagnóstico geral que não pode especificar a etiologia da enfermidade (Borbon, 1977). Comparando os resultados de 9.000 provas de CMT com exames bacteriológicos, (Daury & Reed), segundo Borbon (1977), chegaram a conclusão de que o método bacteriológico de um quarto não pode ser comparado com um CMT. O CMT, segundo eles, representa a medida dos produtos de inflamação ou irritação do úbere, sem que isso signifique o conteúdo de uma amostra em separado. Ainda Borbon (1977), reporta-se ao que denomina "mastite química" cuja irregularidade do CMT chega a variar em espaço de 24 horas, atribuindo esses casos a problemas de ordem nutricional, especialmente ligados a uma baixa de reserva alcalina associada a uma deficiência de minerais.

No Instituto de Pesquisa Veterinária de Peradeniya do Ceilão, Rupasinghe & Kulassegaram (1978), compararam 150 amostras de leite CMT positivos com o exame bacteriológico e encontraram um percentual de coincidência

de 73%.

Na UEPAE "Cinco Cruzes" de Bagé, EMBRAPA, procurou-se realizar o mesmo tipo de comparação acrescentando mais a prova de Whiteside Modificada no sentido de avaliar qual o grau ou índice de coincidência desses dois testes com o exame bacteriológico, tomado como ponto de referência.

MATERIAL E MÉTODOS

O Projeto Bovinos de Leite da UEPAE "Cinco Cruzes" de Bagé, EMBRAPA, possui um núcleo de gado holandês PC, registrado, constituído por um rebanho de cerca de 200 cabeças e cujo grupo de vacas em produção oscila em torno de 120 vacas de forma permanente entre secas e em lactação, além de novilhas de reposição e demais categorias mais jovens.

Em junho de 1980, escolheram-se 50 vacas em lactação, tendo-se cuidado de não incluir vacas em início ou final de lactação.

Essas 50 vacas ofereceram uma população de 200 quartos em função regular, secretando leite de aspecto normal, sem mastite clínica. Esses 200 quartos foram submetidos a 4 provas sucessivas e semanais de CMT, totalizando 800 exames. Através desse procedimento, descartando-se aqueles que não apresentassem, pelo menos, duas

provas positivas subseqüentes, foram eleitos 24 quartos CMT/positivos. Desses 24 quartos foram colhidas amostras de leite para exame bacteriológico, observando-se os cuidados de assepsia recomendáveis para esse fim: lavagem externa dos quartos e mamilos com água e sabão; desinfecção do meato e do respectivo mamilo com algodão embebido em álcool; desinfecção prévia das mãos do ordenhador que, com frascos esterelizados, colhia cerca de 20 ml de leite de cada quarto, individualmente, sendo os frascos flambados no bico e na tampa antes de serem fechados e imediatamente levados ao refrigerador de onde eram remetidos ao laboratório para exame bacteriológico.

Os exames de laboratório consistiram de sementeiras em agar-sangue, agar Mc Conkey e em caldo simples.

Em agosto de 1981, procedeu-se da mesma forma com outras 50 vacas em lactação, quando foram eleitos 32 quartos CMT/positivos para exame bacteriológico.

Ainda em 1981, no mês de setembro, os mesmos 200 quartos em lactação estudados sob o método de CMT foram submetidos à prova de Whiteside Modificada. A reação foi efetuada em Placa de Huddleson para soro-aglutinação rápida com antígeno de Brucelose. A 5 gotas de leite resfriado era adicionada 1 gota de solução normal de soda (NaOH a 4%) fazendo-se a mistura com bastão apropriado (palitos). A leitura era feita imediatamente e a interpretação obedeceu ao critério de dois resultados, ape

nas; positivo ou negativo; abandonando-se a escala de positividade de 1 a 4, o resultado \pm e, desprezando-se as reações fracas. Com este critério foram escolhidos 33 quartos Whiteside/positivos para exame bacteriológico seguindo normas e métodos já descritos anteriormente.

RESULTADOS

1. Em junho de 1980, de 24 quartos CMT/positivos, 12 foram também positivos no exame bacteriológico, com um índice de coincidência de 50%.
2. Em agosto de 1982, de 32 quartos CMT/positivos, 16 foram também positivos no exame bacteriológico, com um índice de coincidência de 50%.
3. Ambos os percentuais de coincidência obtidos em dois anos consecutivos confirmaram-se, reciprocamente, em 50%.
4. Em setembro de 1981, de 33 quartos Whiteside/positivos, 28 foram também positivos no exame bacteriológicos, com um índice de coincidência de, praticamente, 85% (84,85).
5. Todos os exames bacteriológicos realizados, tanto em 1980 quanto em 1981, com resultado positivo, apresentaram crescimento em agar-sangue de colônias de *Staphylococcus* sp do tipo hemolítico e coagulase positivos, sugerindo, de acordo com Von Daranyi, Gross,

Bier e Chapman et al., citados por Bier (1961) tratatar-se do *Staphylococcus aureus* por este comportamento.

6. Não houve crescimento de outros gêneros ou microrganismos, tais como fungos ou leveduras.
7. O CMT e o Whiteside, conquanto tenham sido quase coincidentes no número de quartos positivos, 32 e 33, respectivamente, não o foram em relação aos mesmos quartos onde apenas 14 coincidiram.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Embora o teste de Whiteside tenha sido 35% superior ao CMT no confronto com o exame bacteriológico, não se pode afirmar que esta superioridade seja absoluta neste percentual; pois, sabe-se que ambas as provas, denunciam uma situação de caráter flutuante com oscilações acentuadas ao longo do tempo, de conformidade com a maior ou menor irritação glândular.

As descargas celulares, de leucócitos e alterações de pH, podem variar no curto espaço de 24 horas, segundo Borbon (1977).

Mesmo assim, achamos plausível admitir que a prova de Whiteside, em determinadas circunstâncias, apresente um melhor desempenho em função, por exemplo, de uma falha na execução do CMT ou na preparação do reagento.

te não industrializado.

Figueiredo, segundo Hipolito et al. (1965), considera o CMT superior a outras provas indiretas sendo inferior, apenas, aos exames bacterioscópico e bacteriológico que, no entanto, já são provas diretas.

Silva Fº e Porto (1964) encontraram um percentual em torno 80% de coincidência entre o Whiteside e o bacteriológico, trabalhando com amostras de todo o úbere e não de cada quarto, individualmente.

Rupashinghe & Kulassegaram (1978) compararam 150 amostras de leite de quartos CMT/positivos com o exame bacteriológico encontrando uma coincidência de 73%. Houve, no entanto, uma etiologia bacteriana mais variada do que no presente trabalho o que, talvez, justifique o maior índice de coincidência encontrado.

Em face destes resultados e da bibliografia pertinente ao assunto que compulsamos, acreditamos que ambas as provas, o CMT e a prova de Whiteside Modificada, guardadas as devidas limitações e diferenças de exequibilidade na execução, constituem instrumentos válidos na avaliação do estado de saúde de uma população de quartos em lactação. Quando associados ao exame bacteriológico, podem orientar um plano de tratamento correto para o período de secagem.

Schalm (1963) considera que o CMT tanto quanto a prova de Whiteside servem não apenas para avaliar o es

tado de saúde dos úberes como, ainda e também, para tes
tar o nível de desempenho do equipamento de ordenha mecã
nica.

Finalmente, é interessante considerar, que o CMT
depende da consecução do reagente que nem sempre é encon
trável em nossas condições de interior, ao passo que, o
reagente para a prova de Whiteside, uma simples solução
de soda a 4%, é conseguida em qualquer farmacia de um po
voado. Embora a maior simplicidade e facilidade para a
execução de um CMT, feito durante o ordenha e ao pé da
vaca, com resultado imediato de cada quarto em particu
lar, é relevante consideradr a boa efetividade da prova
de Whiteside bem como a fácil obtenção de seu reagente,
muito simples e muito barato.

Acima de tudo, é desejável que pelo menos uma
dessas provas venha a se tornar rotineira em nossos está
bulos de ordenha já que a contagem eletrônica de células
ainda não é exeqüível nas condições brasileiras, em lar
ga escala.

AGRADECIMENTOS

Cumprе registrar nossos agradecimentos:

Ao Instituto "José Ghisolfi" de Pesquisas Agro
veterinárias, na pessoa de seu Diretor, Dr. Adil K. Vaz,
pelo apoio decidido e sem reservas que nos proporcionou,

colocando à nossa disposição os laborat^orios daquela instituição para que fossem realizadas as provas laboratoris.

À Dra. Ana Luiza Cabral Risch, Médica Veterinária, bacteriologista deste instituto, pela orientação e efetivação dos exames bacteriol^ogicos do leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIER, O. Germes Piogênicos. In: BACTERIOLOGIA E IMUNOLOGIA. Rio de Janeiro. Ed. Melhoramentos, 1961. cap.18, p.337-51.
- BORBON, F.O. Contribuição al estudio de las mastitis. In: GACETA VETERINARIA. Buenos Aires, 1977. Tomo XXXIX, nº 318. p.116.
- COELHO, W.P. Os métodos de combate à mastite bovina. In: ATUALIDADES VETERINÁRIAS SÃO PAULO, SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1974. vol.3. p.14-25.
- HELGUERA, G.L. Guia practico para el control de la mastitis bovina. In: VETERINARIA URUGUAY. Instituto Veterinario, 1976. nº 9.
- HIPOLITO, O.; FREITAS, M.G. & FIGUEIREDO, J.B. Mastite Estreptocócica das Vacas. In: DOENÇAS INFECTO-CONTAGIOSAS DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS. São Paulo. Melhoramento, ed. 4. 1965. p.26-37.
- LEPLATRE, J. La profilaxia de las mastitis visto bajo el ángulo de la practica. In: GACETA VETERINARIA. Buenos Aires, 1977. p.210.

- ROGICK, F.A.; PORTO, E. & GONÇALVES, M. A mastite sub
clínica no rebanho produtor de leite tipo "B". In:
Bol. Indust. Anim., Nova Série, 22(Único). p.91-120.
dez. 1964.
- RUPASINGHE, T. & KULASSEGARAN, P. Incidence and Aetiology
of subclinical Mastitis in Cows in SRI LANKA. Veteri
nary Research Institute, Paradeniya. Ceylon Vet. J.
vol. 26, nº 1-4. p.22-28.
- SCHALM, O.W. Mastitis. In: DISEASES OF CATTLE. Gibbons,
W.J. (Ed.) American Veterinary Publications, Inc. Ca
lifornia. 1963. p.427-455.
- SCHMIDT, G.H. & VAN VLECK, L.D. Enfermedades de la ubre.
In: BASES CIENTIFICAS DE LA PRODUCCIÓN LECHERA. Princi
ples of Dairy Science. Zaragoza Acríbia, 1976. cap.8.
p.153-66.
- SILVA Fº, F.S. da. & PORTO, E. Valor da Prova de Whitesi
de Modificada na Descoberta da Mastite Bovina. In:
Bol. Ind. Anim. Nova Série 22(Único). p.171-90. dez.
1964.