



## Mastite subclínica bubalina por *Aspergillus fumigatus*

(*Bubaline subclinical mastitis by Aspergillus fumigatus*)

### "Relato de Caso/ Case Report"

AAF Oliveira<sup>A(\*)</sup>, CAM Lopes<sup>B</sup>, JW Pinheiro Júnior<sup>A</sup>, RA Mota<sup>A</sup>,  
LBG da Silva<sup>A</sup>, NS Rocha<sup>B</sup>, GG Wanderley<sup>A</sup>

<sup>A</sup>Laboratório de Bacterioses do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, 52.171-900, Recife-PE/Brasil

<sup>A</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu. Distrito de Rubião Júnior, s/n, 18.618-000, Botucatu-SP/Brasil.

#### Resumo

Objetivou-se relatar a ocorrência de mastite subclínica num bubalino de um estudo realizado com 548 amostras de leite procedentes de 137 búfalas das raças Murrah e Mediterrâneo pertencentes a sete propriedades leiteiras, localizadas nos Municípios de Jaú, Botucatu e Sorocaba, Estado de São Paulo. Os animais do estudo foram submetidos ao exame clínico da glândula mamária pela inspeção e ao diagnóstico da mastite clínica pela prova da Caneca Telada e subclínica pelo "California Mastitis Test" (CMT). As amostras de leite foram encaminhadas ao laboratório para estudos microbiológicos e, paralelamente, e teste de "Whiteside" modificado (WSM). Os agentes isolados foram identificados pelas características morfológicas de suas colônias e microcultivos corados com azul de algodão. Do total de amostras examinadas, isolaram-se duas amostras fúngicas puras representando 2,86% do total de microorganismos isolados, correspondendo a dois quartos mamários em um mesmo animal, classificados como pertencentes à espécie *Aspergillus fumigatus*. O animal em questão apresentou reação de ++ ao CMT em ambos os quartos acometidos e reação negativa ao WSM. Deste modo, conclui-se que o *Aspergillus fumigatus* participa de maneira discreta como agente determinante da mastite subclínica bubalina, entretanto, reveste-se de importância porque os animais acometidos podem atuar como reservatórios em potencial e, principalmente, gerar a possibilidade de infecção humana.

**Palavras-chave:** búfalo, glândula mamária, inflamação, fungo.

#### Abstract

This research aimed to report the occurrence of subclinical mastitis in a buffalo from a study carried out with 548 milk samples of 137 Murrah and Mediterranean buffalos from seven milk properties, located in the cities of Jaú, Botucatu and Sorocaba, State of São Paulo. The animals of the study were submitted to a clinical examination of the mammary gland by the inspection and to the diagnosis of clinical and subclinical mastitis by "California Mastitis Test" (CMT), being the milk samples later directed to the laboratory for microbiological studies and also to the test of Whiteside Modified (WSM). The isolated agents were identified by the morphological characteristics of its colonies and through microculture staining with blue cotton. Two (02) pure fungi samples were isolated representing 2.86% of the total isolated microorganism, corresponding to two mammary rooms in one animal, and were classified as pertaining to the *Aspergillus fumigatus* specie. The animal in question showed reaction of ++ to the CMT in both affected rooms and negative reaction to the WSM. In this way it is concluded that the *Aspergillus fumigatus* participates in a discrete way as a determinant agent of bubaline subclinical mastitis, however it is important because the affected animals can act as potential reservoirs and may be able to generate the infection in human beings.

**Key-words:** buffalo, mammary gland, inflammation, fungi.

(\*) Autor para correspondência/Corresponding Author (andreaafo@hotmail.com).

Uma das principais funções dos búfalos consiste na produção de leite, não somente devido a sua superioridade revelada na produção quantitativa, mas, especialmente, pelo elevado teor de matéria gorda que caracteriza o leite bubalino.

A capacidade de transformar alimentos grosseiros, inferiores e do mais insignificante valor nutritivo em leite saboroso, rico em gordura, destinado tanto ao consumo *in natura*, quanto ao preparo de queijos e manteiga é uma característica própria e importante dos bubalinos (FONSECA, 1987).

Inúmeras enfermidades determinam sérios problemas para a indústria leiteira, dentre elas, a inflamação da glândula mamária influencia, de forma decisiva, os aspectos econômicos das propriedades leiteiras. As perdas econômicas devido à mastite bubalina são elevadas e usualmente ocorre reduzindo a produção de leite e aumentando os custos com tratamento e honorários veterinários, além do descarte do leite contaminado (HAMZA e CHOUDHURI, 1994; SINGH e SINGH, 1994).

Nas espécies bovina e bubalina, os fatores relacionados à injúria da teta, defeitos no esfíncter, permanência do patógeno e estado imune dos diferentes quartos mamários, representam um importante papel no desenvolvimento da mastite subclínica. A susceptibilidade das búfalas em relação à mastite é muito reduzida quando comparada à vaca, possivelmente devido a espessura da camada do epitélio e queratina, além de uma melhor organização da musculatura do esfíncter do teto (SAINI et al., 1994).

Ao longo dos anos, a mastite micótica bubalina e bovina tem adquirido maior importância, não apenas como causa de grandes prejuízos econômicos, mas por tornar o leite impróprio para o consumo humano. Este fato pode ser atribuído a vários fatores, como tratamento de mastite sem diagnóstico apropriado, administração prolongada de antibióticos e esteróides e contaminação por infusões intramamárias. Relatos como o de Chhabra et al. (1996) revelaram alta preva-

lência para mastite micótica, sendo os fungos filamentosos e leveduras isoladas, respectivamente, de 10% e 16,6% das amostras. Mahapatra et al. (1996) obtiveram em 150 amostras de leite obtidas de animais com mastite clínica e subclínica, positividade em 74 (49,33%) ao CMT, com 6,8% do total das amostras positiva para fungos filamentosos e leveduras; destas 5,4% foram *Candida albicans* e 2,27% *Aspergillus* spp.

Chhabra et al. (1998) detectaram mastite micótica em 23,14% de 350 amostras de leite de búfalas examinadas. Destas, 51 (63%) foram leveduras e 30 (37%) fungos filamentosos. As leveduras mais comumente isoladas foram *Candida albicans* (33,3%), *Candida krusei* (25,5%), *Candida tropicalis* (15,7%), *Candida parapsilosis* (13,7%), *Candida guilliermondii* (5,9%), *Trichosporon* spp. (3,9%) e *Rhodotorula* spp. (2%). Dos fungos filamentosos isolados predominaram *Aspergillus niger* (33,3%), *Aspergillus fumigatus* (23,3%), *Mucor* spp. (13,3%), *Aspergillus flavus* (6,7%) e *Penicillium* spp. (3,3%).

Neste trabalho objetivou-se relatar a ocorrência de mastite subclínica num bubalino de um estudo realizado com 548 amostras de leite procedentes de 137 búfalas das raças Murrah e Mediterrâneo pertencentes de sete propriedades leiteiras, localizadas nos Municípios de Jaú, Botucatu e Sorocaba, Estado de São Paulo.

Durante a realização do experimento foram visitadas sete propriedades leiteiras localizadas nos Municípios de Jaú, Botucatu e Sorocaba do Estado de São Paulo, com média de 50 búfalas em lactação.

A ordenha era realizada mecanicamente em seis propriedades e em apenas uma era efetuada manualmente, porém, todas as propriedades realizavam pré e pós "dipping". Obteve-se 548 amostras de leite, procedentes de 137 búfalas das raças Murrah e Mediterrâneo, de diferentes idades e estágios de lactação, mas eram mantidas sob o mesmo sistema semi-intensivo de manejo.

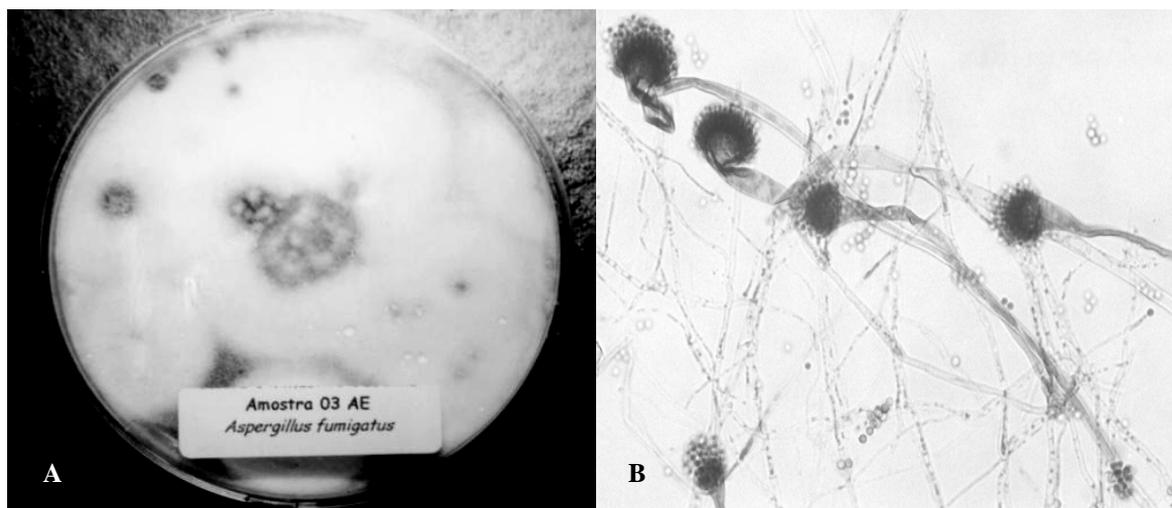
Os animais do estudo foram submetidos ao exame clínico da glândula

mamária pela inspeção dos quartos mamários e ao diagnóstico da mastite clínica pela prova da Caneca Telada e subclínica pelo "California Mastitis Test" (CMT), segundo Schalm e Noorlander (1957). Os dados clínicos e biométricos de cada animal foram registrados em fichas individuais, onde constou idade, estágio da lactação, número de partos e média de produção leiteira.

Dos quartos mamários positivos e negativos ao CMT foram colhidas amostras de 10 mL de leite em frascos estéreis e identificados com o nome ou número do animal e respectivo quarto mamário, após prévia lavagem do úbere com água e sabão, secagem com papel toalha e antissepsia do óstio do teto com álcool a 70° GL. As amostras assim caracterizadas foram acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo reciclável e

imediatamente encaminhadas ao Laboratório do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da UNESP-Botucatu-SP, onde foram realizados os estudos microbiológicos e paralelamente o teste de "Whiteside" modificado (WSM), conforme Murphy e Hanson (1941).

De cada amostra obtida, semeou-se, em duplicata, alíquotas de 0,1 mL em placas contendo Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Oxoid) e Mycosel Agar (MyA) (Oxoid) para isolamento fúngico, as quais foram incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas, sendo adicionalmente mantidas por 14 dias em temperatura ambiente. Os agentes isolados foram identificados pelas características morfológicas de suas colônias e através de microcultivos corados com azul de algodão, de acordo com Lacaz et al. (1998).



**Figura 1** – *Aspergillus fumigatus* isolado de leite bubalino. Mycosel Agar – MyA (A) e Azul de Algodão (B), 400x.

Do total de quartos mamários examinados, isolaram-se duas (02) amostras fúngicas puras (Figura 1A) obtidas de um mesmo animal em quartos mamários diferentes, representando 2,86% do total de microorganismos isolados (fungos e bactérias). Estes foram classificados como pertencentes à espécie *Aspergillus fumigatus* pelas características morfológicas,

microcultivo e coloração específica (Figura 1B).

Os resultados referentes ao CMT e WSM encontram-se dispostos na Tabela 1. Todas as búfalas encontravam-se no terço médio da lactação e não constava histórico anterior de mastite clínica ou perda de quartos mamários, bem como histórico de abortos ou outros distúrbios reprodutivos e apenas seis

(06) animais apresentaram histórico de mastite subclínica em lactação anterior, incluindo o animal em questão com mastite subclínica detectada na lactação atual.

**Tabela 1** – Resultado do CMT, WSM e análise microbiológica por quarto mamário referente ao animal positivo à cultura fúngica. Botucatu, 2002.

Nº de Animal	Quarto Mamário	CMT	WSM	Exame Microbiológico
03	AD	++	-	<i>A. fumigatus</i>
03	AE	++	-	<i>A. fumigatus</i>
03	PD	-	-	Negativo
03	PE	-	-	Negativo

A mastite micótica em búfalas tem sido relatada por alguns autores com relativa frequência. Mahapatra et al. (1996) obtiveram 2,70% de isolamento em 50 amostras de leite para *Aspergillus* spp., incluindo, principalmente, o *A. fumigatus*. Neste estudo, foram isoladas apenas duas amostras (2,86%) de *A. fumigatus*.

A frequência de fungos causadores de mastite em búfalos, associados ou não a bactérias, tem assumido certa importância mais recentemente, não somente pelas perdas econômicas que acarretam, mas pelo aumento no consumo do leite de búfalas pela população. O aparecimento de fungos em amostras de leite pode estar associado à administração prolongada de antibióticos e esteróides, contaminação por infusões intramamárias e tratamentos sem diagnóstico específico do agente envolvido. Este fato, de certo modo, pode explicar a infecção mamária do animal pelo fungo, visto que o mesmo apresentou mastite subclínica em lactação anterior e foi submetido a tratamento com antibioticoterapia.

Alguns animais aparentemente sadios apresentam fungos localizados nas tetas que são responsáveis pela causa posterior de mastites subclínicas e disseminação do agente a outros animais no rebanho, atuando como reservatório em potencial, gerando a possibilidade de infecção humana. A grande influência no aparecimento destes fungos

colonizando a glândula mamária deve-se também ao ambiente onde se encontram as búfalas, geralmente ambientes úmidos e alagadiços que propiciam o aparecimento destes.

O isolamento das duas amostras fúngicas neste estudo pode ser explicado pela utilização anterior de antibióticos intramamários com uso prolongado e indiscriminado, associado ao fator ambiental. Ressalta-se que as amostras analisadas positivas à cultura fúngica apresentaram reação ++ ao CMT.

Deste modo, conclui-se que o *A. fumigatus* participa de maneira discreta, porém, ativa como agente determinante da mastite subclínica bubalina, revestindo-se de importância porque os animais acometidos podem atuar como reservatório em potencial e, principalmente, gerar a possibilidade de infecção humana, além de determinar perdas econômicas em virtude do difícil tratamento.

#### Referências

- CHHABRA, D. et al. Prevalence of mycotic mastitis in cows and buffaloes in Madhya Pradesh. **Indian Veterinary Journal**, v.73, p.1-3, 1996.
- CHHABRA, D. et al. Mycotic mastitis in buffaloes. **Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology & Infectious Disease**, v.19, n.2, p.108-109, 1998.
- FONSECA, W. **Búfalo: estudo e comportamento**. São Paulo: Editora Ícone, 1987. 405p.
- HAMZA, P.A.; CHOUDHURI, P.C. Chemoprophylactic studies on mastitis in buffaloes. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 47, n.9, p.723-726, 1994.
- LACAZ, C.S. et al. **Guia para identificação de fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. 1ª ed. São Paulo: Sarvier/FAPESP, 1998. 445p.
- MAHAPATRA, S. et al. Occurrence of mycotic mastitis in buffaloes of Orissa. **Indian Veterinary Journal**, v.73, n.10, p.1021-1023, 1996.
- MURPHY, J.M.; HANSON, J.J. A modified whiteside test for detection of chronic bovine mastitis. **Cornell Veterinary**, v.31, p.47-55, 1941.

SAINI, S.S. et al. Prevalence and etiology of subclinical mastitis among crossbred cows and buffaloes in Punjab. **Indian Journal of Dairy Science**, v.47, p.103-106, 1994.

SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.O. Experiments and observation leading to

development of California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.130, n.5, p.199-204, 1957.

SINGH, P.J.; SINGH, K.B. A study on economic losses due to mastitis in India. **Indian Journal of Dairy Science**, v.47, n.4, p.265-272, 1994.