



Assunto: Análise Molecular qPCR (Real Time) para diagnóstico de *Mycoplasma* spp e *Mycoplasma bovis* em amostras de leite bovino - VIDA VET BOTUCATU



MICOPLASMOSE BOVINA

“QUALQUER REBANHO PODE SE INFECTAR COM *Mycoplasma*, PORTANTO, O MONITORAMENTO SE FAZ IMPRESCINDÍVEL”

“Mycoplasma is a particularly challenging organism because of two major characteristics: it is highly contagious and, in the case of mastitis, it is untreatable.”
(Sheila Andrew, Professor and Extension Dairy Specialist at the University of Connecticut)

"All of the worst outbreaks of clinical mycoplasma mastitis, arthritis, and pneumonia in adult dairy cows – affecting approximately one-third of the herd – that I've seen have been in herds that had a low prevalence of mycoplasma-positive cows they were trying to live with for at least a year, and it got away from them." (Dave Wilson, Dairy Extension Veterinarian at Utah State University)

“Would you be ready for a mycoplasma outbreak in your herd? You may wonder if it is even likely to be a problem on your herd. Maybe you have not heard about it in your area, or you think those dairies that got the disease must have done something to deserve it. Maybe you feel you have a closed herd and your biosecurity measures will keep it away. Well don't rest too easy. There is reason to think that the face of the disease is changing.”

(Allan Britten - Udder Health Systems, Inc. Bellingham, Washington)

Sobre os *Mycoplasmas*:

- Espécies de *Mycoplasmas* que causam mastite : *M. californicum*, *M. bovigenitalium*, *M. arginini*, *M. bovirhinis*, *M. canadense*, *M. alkalescens* e *M. bovis*, sendo este último a cepa mais virulenta para bovinos, associada à sintomas clínicos mais severos.

- Atualmente são classificados como eubacterias, filogeneticamente gram-positivas pertencentes ao gênero Mollicutes. Tem um genoma muito limitado e dependem exclusivamente do metabolismo do hospedeiro para sobreviver. Não possui parede celular definida.

- *Mycoplasma spp* sofre frequentes mudanças na sua estrutura, especialmente na produção de proteínas de membrana. Essa característica confere a ele a capacidade de evasão dos mecanismos de defesa do animal e sua manutenção como agente causador de mastite.

- Afeta vacas em lactação, vacas secas, novilhas pré parto e bezerras.

- Existem animais assintomáticos e animais clínicos.

- A entrada no rebanho geralmente se dá pela aquisição de 1 animal positivo assintomático, novilha de reposição ou após retorno de exposição, feiras, torneios.

- Sempre através de um animal infectado, seja pela introdução primária do agente ou como carreador de novas cepas

- Causa mastite clínica, subclínica e crônica.

- Mastite clínica sem comprometimento sistêmico do animal:

edema → grumo → pus → secreção aquosa → queda produção leite → rápida transmissão para outros tetos

- 1 teto positivo pode contaminar outro teto em 4 DIAS;

- O animal positivo elimina um grande número do agente no leite antes de apresentar sintomas clínicos. Período de incubação de 14 dias.

- Poucos microrganismos são necessários para infectar 1 quarto mamário portanto, 20-30% do rebanho pode se infectar rapidamente durante um surto.

- Leite negativo não significa animal negativo. Ele pode ser portador nasal.

- Infecção com caráter contagioso, o agente coloniza vários sistemas do organismo animal: respiratório (pneumonia), reprodutivo (vaginite), mamário (mastite), circulatório, ósseo (artrite). Um bezerro filho de mãe positiva pode ser negativo e se contaminar no momento do parto ou nascer positivo.

- O bezerro é parte importante na disseminação da doença: verificar casos de otite média, pneumonia, artrite.

- Bezerras se infectam pelo colostro, leite, parto, transmissão vertical.

- Bezerras disseminam por aerossol, compartilhando fômites, baldes, mamadeiras, alimentadores automatizados.

- Bezerros mais velhos infectados continuam a infectar os mais jovens quando estes entram no bezerreiro, portanto perpetuam a doença.

- Principal forma transmissão: contato direto nariz/ nariz, aerossóis, equipamento ordenha/ mãos ordenhador/ tetiras ou todas as formas citadas.

- Mães assintomáticas, carreadoras nasais podem gerar bezerras clínicas (artrite, pneumonia) ou novilhas com mastite.

- Algumas cepas de *M. bovis* podem formar abscessos mamários em bezerras pré púberes.

- Coloniza o trato respiratório de adultos e bezerras, dissemina-se através da via hematogênica e/ ou linfática para demais órgãos do corpo.
- Porta entrada nasal = portadores assintomáticos em narina e traquéia. Nos períodos de estresse ou queda da imunidade, migração do agente para pulmão e ouvido, desenvolvendo clínica de pneumonia e otite média. A partir do pulmão, por via hematogênica, ele chega até demais órgãos causando principalmente mastite e artrite.
- Novilhas podem ter mastite por *Mycoplasma* antes da primeira lactação.
- **Animais assintomáticos são fontes de infecção importantes.**
- Vacas crônicas apresentam eliminação intermitente do agente e CCS flutuante.
- **A CCS pode variar. Normalmente a infecção por *M. bovis* eleva a CCS, porém CCS baixas também são vistas em vacas infectadas. Animais assintomáticos podem ter CCS abaixo de 100 mil sempre, sem nunca apresentar 1 caso de mastite, esses são os grandes disseminadores do agente.**
- Associação positiva com mastite por *Staphylococcus* Coagulase Negativa e *Streptococcus* ambientais.
- Vacas se tornam portadoras subclínicas após se recuperarem de mastite clínica, ou são sempre subclínicas, sem nunca apresentarem mastite clínica. Eliminam o agente de forma intermitente.
- Podem aparecer em rebanhos fechados. Associação com moscas e após surto de *Moraxella*.
- Seria considerado um patógeno somente contagioso? Ou também ambiental? Trabalhos relatam que em cama de areia ele se manteve viável por até 9 meses, e apresentou associação positiva em fazendas com uso de areia lavada.
- O estresse é um grande fator de risco, devido à conversão de animais assintomáticos em clínicos, aumentando a disseminação do agente no rebanho. Atenção ao período pós-parto! Principalmente nas novilhas!
- Diagnóstico através de PCR de leite individual, swab nasal, leite de tanque;
- Diagnóstico de tanque por PCR (qPCR apresenta maior sensibilidade): coletar 3 amostras de tanque com intervalo de 4 dias entre elas;
- Diagnóstico PCR amostras vaca: Pode-se trabalhar com pool de 5 amostras inicialmente e depois rastrear individualmente os casos de pool positivo.
- Sempre testar animais comprados, sejam bezerras, novilhas ou vacas. Animais colonizados assintomáticos são os principais carreadores deste agente para o rebanho.
- Alterações no leite: queda de produção, aumento de proteína, queda na gordura e sólidos totais pelo aumento de albumina sérica e imunoglobulinas devido processo resposta imune.
- Alteração função do alvéolo mamário, diminuição da integridade epitélio e presença da atividade de enzimas
- *M. arginini* predispõe a colonização por *Str. dysgalactiae* e pode ser considerado zoonose.
- *M. bovirhinis* tem associação positiva com aumento CCS elevadas.
- **O monitoramento do Mycoplasma pode ser feito em nível de rebanho com amostras regulares de leite de tanque que incluam todas as vacas da fazenda. Devido a eliminação intermitente de vacas infectadas subclínicamente, vários testes (até 5) de 3 a 4 dias irão aumentar a sensibilidade e especificidade do teste. O teste deve ser repetido sempre que as vacas secas tenham parido.**

QUANDO DESCONFIAR?

- Vacas não responsivas á tratamento
- Aumento abrupto da CCS do tanque
- Surto de mastite clínica sem associação com agentes contagiosos (*Str. agalactiae* e *S. aureus*).

MONITORAMENTO:

Em rebanhos com prevalência desconhecida:

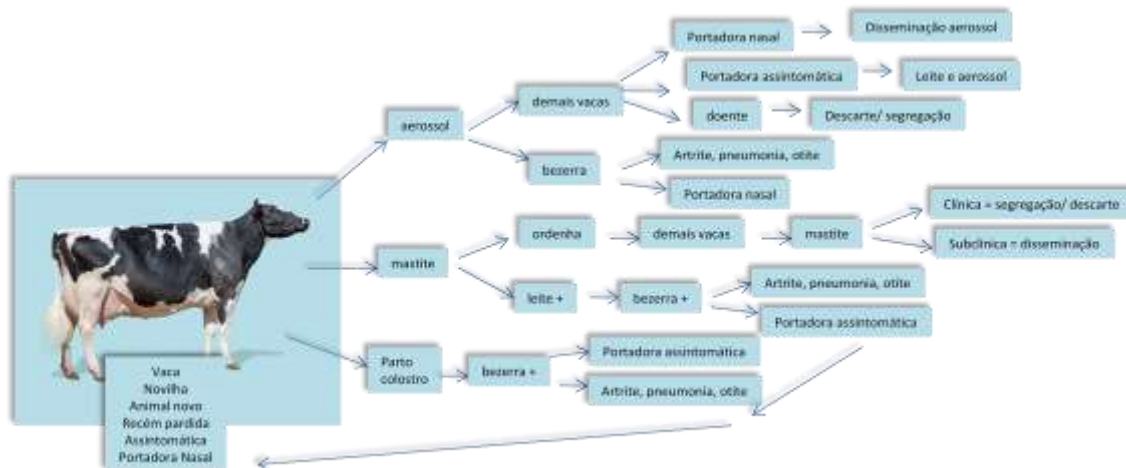
- 1) Amostras de tanque ou lotes (máx. 100 vacas) – 5 coletas por tanque repetidas a cada 3 dias
- 2) Amostra de vacas clínicas

Em rebanhos com prevalência baixa:

- 1) Amostra de tanque ou lotes mensais- 5 coletas por tanque repetidas a cada 3 dias. Se positivo, fazer pool de 10 vacas e abrir até resultado individual
- 2) Amostra de vacas clínicas
- 3) Amostras vacas recém paridas ou animais novos
- 4) Amostra de swab nasal vacas com CCS flutuante sem casos de mastite (assintomático)
- 5) Segregação de animais positivos com ordenhas separadas e desinfecção do sistema após grupo positivo. Um animal positivo será positivo por toda vida.
- 6) Descarte de animais crônicos.
- 7) Repetir amostras positivas para confirmação (descartar contaminação coleta)
- 8) Repetir amostras negativas de vacas suspeitas

Em rebanhos com prevalência alta:

- 1) Amostra de tanque ou lotes semanais- 5 coletas por tanque repetidas a cada 3 dias. Se positivo, fazer pool de 5 vacas e abrir até resultado individual
- 2) Amostra de vacas clínicas
- 3) Amostras vacas recém paridas
- 4) Amostra de swab nasal vacas com CCS flutuante sem casos de mastite (assintomático).
- 5) Swab nasal das bezerras nascidas de mães positivas clínicas ou assintomáticas
- 6) Segregação de animais positivos com ordenhas separadas e desinfecção do sistema após grupo positivo. Um animal positivo será positivo por toda vida.
- 7) Descarte de animais crônicos.
- 8) Repetir amostras positivas para confirmação (descartar contaminação coleta)
- 9) Repetir amostras negativas de vacas suspeitas
- 10) PCR de todos animais adquiridos (vacas, novilhas e/ou bezerras)



(VIDAVET, 2018)

PREVENÇÃO: adoção de medidas de Biosegurança

- PCR em todos os animais adquiridos, antes de entrarem no rebanho.
- PCR de tanque da fazenda de origem desses animais
- Testar vacas e novilhas
- Correto manejo de ordenha e desinfecção dos tetos (uso ionóforos)
- Desinfecção de teteiras entre vacas ? Há controversas
- Manutenção equipamento ordenha
- PCR mensal ou semanal do tanque (máximo 100 vacas)
- PCR de todas as vacas clínicas
- Uso colostro em pó ou leite pasteurizado para bezerras
- Uso de luvas para ordenhadores
- Borrifar álcool 70% iodado ou hipoclorito 2% nas luvas entre vacas.

PENSE NELE COMO SE FOSSE PENSAR EM AUREUS + AGALACTIAE. ELE TEM AS CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE DIFICULDADE DE ELIMINAÇÃO DOS *Staphylococcus aureus* E A DISSEMINAÇÃO RÁPIDA DOS *Streptococcus agalactiae*.

Na expectativa de podermos conquistar a confiança depositada em nossos serviços, me coloco à disposição para novos ou eventuais esclarecimentos que se fizerem necessários.

Att

Carla G. C. Vasconcelos

LABORATÓRIO VIDAVET

REDE NACIONAL INTEGRADA DE LABORATÓRIOS AGROPECUÁRIOS DO SISTEMA UNIFICADO DE ATENÇÃO À SANIDADE ANIMAL

Laboratório registrado no CRMV-SP sob o número 15348/J CNPJ: 04821461/0001-86

Responsável Técnica: Dra. Carla Gasparotto C. Vasconcelos

CRMV-SP 7169 CDA/SSA Nº 0493-86/02 Hab.625/2004

R. Prudente de Moraes 677 – Centro – Botucatu/ SP CEP: 16.602-060

Fone/Fax: (14) 38145530 e-mail: resultado@labvidavet.com Site: www.labvidavet.com.br