

MASTITE SUBCLÍNICA BOVINA POR *Corynebacterium bovis* NO NORTE DO PARANÁ, BRASIL^a

ELENA METTIFOGO^b
ERNST ECHEHARDT MULLER^c
JULIO CESAR DE FREITAS^c
JANE MEGID^c
AMAURI ALCINDO ALFIERI^c
VANERLI BELOTI^c

METTIFOGO, E.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C.; MEGID, J.; ALFIERI, A.A.; BELOTI, V. – Mastite bovina por *Corynebacterium bovis* no Norte do Paraná, Brasil.

RESUMO

Foram examinadas 493 vacas da raça holandesa através do "California Mastitis Test" (CMT), na região Norte do Paraná, com o objetivo de estudar a ocorrência do *Corynebacterium bovis* na mastite subclínica. Das 225 amostras de leite positivas no CMT, o *C. bovis* foi isolado em 58 (25,77%). A média da contagem microscópica de células somáticas nas amostras de leite com *C. bovis* foi de 1.032.420 células/ml e a de colônias em ágar-sangue (AS) e "Plate Count Agar" (PCA) 912,88 e 879,63 UFC/ml de leite, respectivamente.

PALAVRAS CHAVES: Mastite; *Corynebacterium bovis*; Bovino.

I – INTRODUÇÃO

A etiologia da mastite bovina é bastante ampla. Os principais agentes etiológicos são classificados por alguns

autores em patógenos maiores e menores (Rainard & Poutrel, 1982) e Sordillo et al, 1989). O *Corynebacterium bovis* é citado como um dos patógenos menores da glândula mamária. Vários autores relataram que este agente provoca

a - Pesquisa realizada com o apoio do CONCITEC e da Coordenadoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Estadual de Londrina

b - Curso de Especialização em Sanidade Animal/Universidade Estadual de Londrina.

c - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Patologia Animal e Zootecnia - CCA/Universidade Estadual de Londrina.

uma resposta inflamatória de baixa intensidade e não altera a composição e a produção do leite (Bramley, 1975 e Sordillo et al, 1989). Rainard & Poutrel (1982), Pankey et al (1985) e Sordillo et al (1989), afirmaram inclusive que o *C. bovis* poderia constituir um mecanismo de controle biológico das infecções mamárias frente aos patógenos maiores através da colonização do canal do teto e da cisterna.

No entanto, Costa et al (1985) e Hogan et al (1988), descreveram uma diminuição na produção de leite em mastites causadas pelo *C. bovis*. Além disso, a ocorrência sob a forma de surto e a capacidade de provocar mastite clínica persistente, demonstram sua patogenicidade e o colocam como fator de risco para o desenvolvimento da pecuária de leite (Costa et al, 1985).

Diferentes pesquisadores relataram a ocorrência desta bactéria nas mastites bovinas. Cobb & Walley (1962) nos EUA, analisando 2772 amostras de leite, observaram uma ocorrência de 32,16% de *C. bovis*. Black et al (1972) também nos EUA, verificaram em dois rebanhos 33,5% e 38,5% de quartos colonizados por este microrganismo. Costa et al (1985) em São Paulo, descreveram uma ocorrência de 32,5%.

Este trabalho tem como objetivo verificar a frequência do *C. bovis* na mastite subclínica bovina.

2 – MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

No período de 1987 a 1989, foram examinadas 493 vacas da raça holandesa em nove diferentes propriedades da região Norte do Paraná.

Deteção das mastites subclínicas

O diagnóstico presuntivo da mastite subclínica na propriedade foi realizado através do "California Mastitis Test" (CMT), segundo Schalm & Noorlander (1957).

Colheita das amostras

Dos quartos positivos ao CMT, foram colhidas amostras de leite em tubos estéreis com tampa de rosca. A colheita foi precedida de rigorosa anti-sepsia dos tetos com álcool iodado (Langenegger et al, 1981). As amostras foram transportadas ao laboratório acondicionadas em recipientes com gelo.

Contagem de células somáticas no leite

O número de células somáticas foi determinado microscopicamente através do método de Prescott & Breed, citado por Birgel & Benesi et al (1983).

Contagem de *Corynebacterium bovis*

Diluições decimais das amostras de leite foram semeadas em "Plate Count Agar" (PCA) segundo método descrito no Lanara (1981) e em placas de ágar-sangue ovino (AS).

Isolamento e identificação

As amostras de leite foram semeadas em placas de AS

e incubadas por 24 a 48 horas a 37°C. Nas placas com crescimento, foram observadas as características morfológicas e tintoriais das diferentes colônias. Para a identificação do *C. bovis* foram realizadas as provas recomendadas por Carter (1988) e Costa et al (1985): coloração de Gram, catalase, oxidase, oxidação e fermentação, uréia, gelatinase, nitrato, acidificação aeróbica de glicose, maltose, lactose e sacarose.

Outros microrganismos isolados foram identificados segundo Jones & Collins (1986).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 493 vacas examinadas através do CMT, 150 (30,42%) mostraram resultado positivo em diferentes graus de reação em um ou mais quartos, perfazendo um total de 225 amostras de leite. Deste total, foi isolado *C. bovis* em 58 amostras (25,77%), sendo 56 (96,55%) em cultura pura e 2 (3,44%) associadas a outros microrganismos. Estes dados se aproximam aos de Cobb & Walley (1962) e Costa et al (1985) que verificaram uma ocorrência de 31,26% e 32,26%, respectivamente. Black et al (1972) também demonstraram uma ocorrência de 33,5% e 38,0% em dois rebanhos estudados.

As amostras identificadas como *C. bovis* mostraram-se da seguinte maneira frente às provas utilizadas: oxidação e fermentação negativas; catalase e oxidase positivas; urease, gelatinase e nitrato negativas; acidificação aeróbica de glicose, lactose e sacarose negativas.

A contagem microscópica de células somáticas nas amostras de leite com isolamento de *C. bovis* é apresentada na tabela 1, onde se verifica que 17 (29,31%) amostras apresentaram contagem inferior a 500.000 células/ml, enquanto que 41 (70,67%) de 500.000 a 3.880.000 células/ml, com a média de 1.032.420 células/ml. Esta contagem foi bem superior as relatadas por Brooks & Barnum (1984), Hogan et al (1988) e Sordillo et al (1989) em amostras de leite com *C. bovis*. As contagens deste trabalho se aproximam inclusive as encontradas por Hogan et al (1988) em quartos infectados por patógenos maiores, como *Staphylococcus* sp, 620.000 células/ml e *Streptococcus* sp, 2.509.000 células/ml.

O aumento de células somáticas no leite de quartos infectados é associado ao decréscimo de produção (Jones et al, 1984), mesmo quando a contagem destas células permanece abaixo de 200.000 células/ml (Kirk, 1984).

Vários autores procuraram demonstrar que o aumento de células somáticas decorrente de uma colonização do quarto por *C. bovis* provoca um efeito protetor, tornando-o mais resistente a novas infecções (Pankey et al, 1985 e Doane et al 1987). Apesar de não terem sido pesquisadas neste estudo eventuais perdas nas produções de leite, o alto número de células somáticas observado na maioria das amostras, indica uma provável diminuição na produção destes animais. Natze et al (1972) verificaram um decréscimo de 857 kg de leite em quarto infectado por *C. bovis* em relação à diminuição de 773 e 878 kg em quartos infectados por *Staphylococcus* sp e *Streptococcus* sp, respectivamente. Também Black et al (1972), Rainard & Poutrel (1982),

Costa et al (1985) e Pankey et al (1985) alertaram sobre a patogenicidade do *C. bovis* determinada pela infecção persistente, invasividade, ocorrência em forma de surto e sua prevalência.

Levan et al (1985) estudando 211 amostras de leite de 53 quartos infectados com *C. bovis* verificaram uma contagem média de 360 UFC/ml e mostraram que com o aumento da contagem de colônias ocorreu uma diminuição na produção de leite.

Neste trabalho a média da contagem de *C. bovis* foi

de 912,88 UFC/ml em AS e 879,63 UFC/ml em PCA (Tabela 2). Estes dados foram bem superiores aos de Levan et al (1985), o que reforça a participação do *C. bovis* nas mastites subclínicas.

A ocorrência de *C. bovis* em 25,77% das amostras de leite associada a alta contagem de colônias e células somáticas fornecem dados que permitem colocar este agente como provável causador de mastite subclínica com consequente prejuízo para a glândula mamária e a produção de leite.

TABELA 1 - CONTAGEM MICROSCÓPICA DE CÉLULAS SOMÁTICAS* DAS 58 AMOSTRAS DE LEITE BOVINO COM ISOLAMENTO DE *C. bovis*, NORTE DO PARANÁ, 1990.

Células/ml	nº. de Amostras - %
Até 500.000/ml	17 (29,31)
500.000 a 1.000.000	19 (32,75)
1.000.000 a 2.000.000	16 (27,58)
Acima de 2.000.000	06 (10,34)
TOTAL	58

* PRESCOT & BREED

TABELA 2 - CONTAGEM DE *C. bovis* (UFC/ml) EM 58 AMOSTRAS DE LEITE BOVINO, NORTE DO PARANÁ, 1990.

UFC/ml	nº. de Amostras/Meio de Cultura	
	PCA*	AS**
Até 100	26	16
100 a 300	05	09
300 a 1.000	21	29
1.000 a 3.000	06	04
TOTAL	58	58

* PCA: "Plate Count Agar"

** AS: Ágar sangue

METTIFOGO, E.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C.; MEGID, J.; ALFIERI, A.A.; Beloti, V. - Subclinical mastitis by *Corynebacterium bovis* in cattle from northern Paraná, Brazil.

SUMMARY

A total of 493 hollander cows were examined through California Mastitis Test (CMT) in the northern Paraná, for the purpose of studying the occurrence of *Corynebacterium bovis* on subclinical bovine mastitis. Among the 225 milk samples that were positive in the CMT, the *C. bovis* was isolated in 58 (25,77%). The average microscopic count of somatic cells in milk samples with *C. bovis* was 1.032.420 cells/ml and the colonies count were of 912,88 on blood agars (BA) and 879,63 CFU/ml of milk on Plate Count Agar (PCA).

KEY-WORDS: Mastitis; *Corynebacterium bovis*; Bovine.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BIRGEL, E.H. & BENEŠI, F.J. Patologia Clínica Veterinária. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1983. 260p.
- 2 - BLACK, R.T.; MASRBALL, R.T.; BOURLAND, C.T. Locus of mammary gland infections of *Corynebacterium bovis*. *J. Dairy Sci.*, 55 (44): 413-418, 1972.
- 3 - BRAMLEY, A.J. Infection of the udder with coagulase-negative micrococci and *Corynebacterium bovis*. In: Proc. Int. Dairy Fed. Seminar on Mastitis control Brussels, 1975. Belgium. p. 377-381, 1975.
- 4 - BROOKS, B.W. & BARNUM, D.A. The susceptibility of bovine udder quarters colonized with *Corynebacterium bovis* to experimental infection with *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus agalactiae*. *Can Comp. Med.*, 48, : 146, 1984.
- 5 - CARTER, G.R. Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária. São Paulo: Roca, 1988. 250p.
- 6 - COSTA, E.O.; CARVALHO, V.M.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; COROMORI, L.F.L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no Estado de São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, 5 (4): 117-120, 1985.
- 7 - COBB, R.W. & WALLEY, J.K. *Corynebacterium bovis* as probable cause of bovine mastitis. *Vet. Rec.*, 74: 101-102, 1962.

- 8 - DOANE, R.M.; OLIVER, S.P.; WALKER, R.D.; SHULL, E.P. Experimental infection of lactating bovine mammary glands *Streptococcus uberis* in quarters colonized by *Corynebacterium bovis*. *Am. J. Vet. Res.*, 48 (5): 749-754, 1987.
- 9 - HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Rate of environmental mastitis in quarter infected with *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus sp.* *J. Dairy Sci.*, 71 (9): 2510-2525, 1988.
- 10 - JONES, D. & COLLINS, M.D. Irregular, nonsporing gram positive Rods. In: BERGEY'S manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986 v.2, p. 1261-1283.
- 11 - JONES, G.M.; PEARSON, R.E.; HEALD, C.W.; VINSON, W.E. Relationships between somatic cell counts and milk production. *J. Dairy Sci.*, 67: 1823, 1984.
- 12 - KIRK, J.H. Programmable calculator program for linear somatic cell scores to estimate mastitis yield losses. *J. Dairy Sci.*, 67: 1823-1831, 1984.
- 13 - LANARA. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes; I. Métodos Microbiológicos. Brasília: Laboratório Nacional de Referência Animal, 1981.
- 14 - LANGENEGGER, J.; VIANI, M.C.E.; BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesq. Vet. Bras.*, 1 (2): 47-52, 1981.
- 15 - LEVAN, P.L.; EBERHART, R.J.; KESLER, E.M. Effects of natural intramammary *Corynebacterium bovis* infection on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.*, 68 (12): 3329-3339, 1985.
- 16 - NATZKE, R.P.; EVERETT, R.W. GUTHRIE, R.S.; KEOWIN, J.F.; NEEK, W.G.; MERRIL, W.G.; ROBERTS, S.J.; SCHMIDT, G.H. Mastitis Control Program: effect on milk production. *J. Dairy Sci.*, 55: 1256-1260, 1972.
- 17 - PANKEY, J.W.; NECKERSON, S.C.; BOODIE, R.L.; HOGAN, J.S. Effects of *Corynebacterium bovis* infection to major mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.*, 68 (10): 2683-2684, 1985.
- 18 - RAINARD, P. & POUTREL, B. Dynamics of nonclinical bovine intramammary infections with major and minor pathogens. *Am. J. Vet. Res.*, 43 (12): 2143-2146, 1982.
- 19 - SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observation leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Assoc.*, 130: 199-204, 1957.
- 20 - SORDILLO, L.M.; DOYMAZ, M.Z.; OLIVER, S.P.; DERMODY, J.T. Leucocytic infiltration of bovine mammary parenchymal tissue in response to *Corynebacterium bovis* colonization. *J. Dairy Sci.*, 72 (4): 1045-1051, 1989.

Recebido para publicação em 01/10/1990

Endereço p/ correspondência:
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Patologia Animal e Zootecnia - CCA/UEL.