

# PREVALÊNCIA E ETIOLOGIA DE MASTITE BOVINA SUBCLÍNICA EM PROPRIEDADES DO ESTADO DE GOIÁS QUE UTILIZAM ORDENHADEIRAS NA OBTENÇÃO DO LEITE <sup>1</sup>

Maria Auxiliadora Andrade <sup>2</sup>, Albenones José de Mesquita <sup>2</sup>, Francisco de Carvalho Dias Filho <sup>2</sup> e Valéria de Sá Jayme <sup>2</sup>

## ABSTRACT

### Prevalence and Etiology of Subclinical Bovine Mastitis in Dairy Properties with Mechanical Milking Process in the State of Goiás

Samples from 942 cows were tested by the California Mastitis Test - CMT. Most of them were black and white holstein, apparently healthy animals, from 25 dairy farms, located in the State of Goiás, in which milking process was made mechanically. It was found that 375 (39,8%) animals showed positive results to CMT in values ranging from +, ++, +++. Milk from each CMT reactive teat, 667 samples in total, was bacteriologically analysed in attempt to isolate and identify microorganisms associated with intramammary infections, obtaining 938 strains in pure culture or in association, as follows: *Staphylococcus aureus*, 291 times (30,2%); *Corynebacterium bovis*, 120 times (12,5%); coagulase negative *Staphylococcus*, 112 times (11,6%); *Streptococcus agalactiae*, 14 times (1,5%); *Streptococcus uberis*, 36 times (3,7%); *Streptococcus pyogenes*, 12 times (1,2%); *Streptococcus spp.*, 66 times (6,9%); *Pseudomonas spp.*, 96 times (10,0%); *Corynebacterium pyogenes*, 24 times (2,5%); *Escherichia coli*, 60 times (6,2%); *Nocardia spp.p.*, 14 times (1,5%) and others, 93 times (9,6%). These microorganisms were considered as being either primarily pathogens (55,8%) or contaminants (41,6%).

KEY WORDS: Subclinical mastitis, primarily pathogens, pathogens contaminants.

## RESUMO

Foram submetidas ao California Mastitis Test - CMT 942 vacas, em sua maioria da raça holandesa preta e branca, aparentemente saudáveis, de 25 propriedades leiteiras, que utilizavam ordenhadeira mecânica na obtenção do leite, localizadas no Estado de Goiás. Observou-se que 375 (39,8%) animais apresentaram resultado de +, ++, +++ ao CMT. Os leites de cada teta que reagiram ao CMT, perfazendo um total de 667 amostras, foram analisados bacteriologicamente, visando ao isolamento e à identificação

1 - Entregue para publicação em maio de 1998.

2 - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. C.P. 131. CEP: 74001-970. Goiânia - GO.

dos microrganismos envolvidos nas infecções intramamárias. Foram isoladas 938 cepas em culturas puras ou em associação: *Staphylococcus aureus*, 291 (30,2%), *Corynebacterium bovis*, 120 (12,5%), *Staphylococcus coagulase negativa*, 112 (11,6%), *Streptococcus agalactiae*, 14 (1,5%), *Streptococcus uberis*, 36 (3,7%), *Streptococcus pyogenes*, 12 (1,2%), *Streptococcus spp.*, 66 (6,9%), *Pseudomonas spp.*, 96 (10,0%), *Corynebacterium pyogenes*, 24 (2,5%), *Escherichia coli*, 60 (6,2%); *Nocardia spp.*, 14 (1,5%) e outros, 93 (9,6%). Esses microrganismos foram categorizados em patógenos contagiosos (55,8%) e em patógenos ambientais (41,6%), apresentando variação estatisticamente significativa.

**PALAVRAS-CHAVE:** Mastite subclínica, leite bovino, patógenos ambientais, patógenos contagiosos.

## INTRODUÇÃO

A mastite subclínica constitui-se em um processo inaparente que pode ser diagnosticado somente através de exames indiretos, como é o caso do California Mastitis Test - CMT (Schalm & Noorlander 1957), que consiste na reação do leite com um detergente aniônico que promove a liberação de DNA das células somáticas, levando à formação de um composto gelificado correspondente à quantidade de células presentes. Quanto maior a intensidade da reação, mais elevado é o número de células somáticas presentes, principalmente leucócitos (Blood & Radostist 1989).

Diversos patógenos podem estar envolvidos nas infecções intramamárias, sendo categorizados em duas classes: os causadores de mastites contagiosas ou primárias e os de mastites ambientais ou secundárias (Pankey 1989, Cullor *et al.* 1993, Fox 1993). Considera-se mastite contagiosa aquela causada por microrganismos bem adaptados para sobreviver no úbere, os quais são transferidos de uma glândula infectada para outra sadia, principalmente durante a ordenha. Nesta categoria se incluem o *Streptococcus agalactiae* e o *Staphylococcus aureus* (Bramley 1987, Pankey 1989, Cullor *et al.* 1993, Gay 1993, Smith & Hogans 1993, Fox 1994).

Além desses dois patógenos mencionados, considerados de "maior patogenicidade" ou "patógenos primários", existem também os de "menor patogenicidade" ou "patógenos secundários". Nesse último grupo incluem-se o *Corynebacterium bovis* e o *Staphylococcus coagulase negativa*, bactérias que, quando colonizam a glândula mamária, promovem reações inflamatórias medianas; raramente, porém, causam mastite clínica. Seus efeitos na produção de leite não estão bem definidos.

A mastite ambiental ocorre quando bactérias que vivem na cama, na água, no solo, em fômites contaminados ou em qualquer componente do meio ambiente da vaca têm acesso à glândula mamária. A transferência dos microrganismos à glândula ocorre, principalmente, no intervalo entre ordenhas (Pankey 1989, Cullor *et al.* 1993, Fox 1993, Gay 1993, Smith & Hogans 1993). Uma grande variedade de organismos tem sido isolada a partir da glândula mamária, como destacou Watts (1988), que, em seu estudo

referiu-se a um total de 137 microrganismos entre espécies, subespécies e sorovariedades. Apesar dessa variabilidade, existem alguns patógenos que invariavelmente são predominantes. Dentre os agentes bacterianos mais prevalentes e patogênicos envolvidos em mastite bovina, Kinabo & Assey (1983), Beloti *et al.* (1991), Bramley *et al.* (1987) e Fox (1994) destacaram o *S. aureus*.

O nível de exposição dos animais aos patógenos é certamente uma das mais importantes causas de variabilidade e prevalência da mastite entre rebanhos (Bramley *et al.* 1987). No entanto, Hogan & Smith (1992) acrescentaram que, além do nível de exposição às bactérias a que os animais estão sujeitos no meio ambiente, a possibilidade de ocorrência de infecção intramamária dependerá, também, dos mecanismos de defesa do animal, aspecto inerente à interação agente, hospedeiro e ambiente.

Andrade *et al.* (1984/86) examinaram 701 vacas lactantes clinicamente e, através do CMT, detectaram 36,23% com distúrbios lácteos. Das 701 fêmeas examinadas, 87 (12,41%) manifestaram alterações macroscópicas do leite, sendo que o *S. aureus* foi o agente mais isolado com 67,70%, seguido pelo *Corynebacterium spp.* com 16,53%, *Streptococcus spp.* com 14,96% e o *S. coagulase negativa* também com 14,96%.

Nader Filho *et al.* (1985) submeteram 497 vacas em lactação ao CMT, encontrando 11,9% (59) das fêmeas reagentes, sendo que 11,1% (55) delas tiveram confirmação bacteriológica. Em relação aos agentes isolados, os autores verificaram a predominância de *S. aureus* com 52,1% (37), seguido pelo *Streptococcus spp.* com 26,8% (19). Nesse gênero, o *S. agalactiae* com 15,5% (11), *S. pyogenes* com 8,5% (6) e o *S. dysgalactiae* com 4,2% (3). O *S. epidermidis* apresentou-se com 11,3% (8), enquanto o *C. pyogenes* ficou com 4,2% (3) dos isolamentos, entre outros.

Costa *et al.* (1985), analisando 2.935 amostras de leite, identificaram o *C. bovis* em 954 oportunidades. Destas, 29,55% (282) corresponderam a amostras de animais com mastites subclínicas, as quais foram detectadas pelas provas do CMT e do Whiteside modificado, e 34,48% (329) foram oriundas de animais aparentemente saudáveis.

Langoni *et al.* (1991) analisaram 702 amostras de leite de bovinos com mastite subclínica. Considerando o número total de agentes isolados através de exame bacteriológico, estes autores detectaram 35,53% de *S. aureus*, 23,19% de *S. epidermidis*, 9,23% de *C. bovis*, 4,49% de *C. pyogenes*, 4,36% de *S. uberis*, 3,37% de *S. dysgalactiae*, 3,24% de *S. agalactiae*, 2,87% de *E. coli*, 2,37% de *Pseudomonas aeruginosa*, 2,12% de *Klebsiella*, 1,37% de *Proteus mirabilis*, 0,25% de *Salmonella* e 0,12% de *Nocardia asteroides*, entre outros. Os autores informaram, ainda, que os gêneros mais frequentes foram *Staphylococcus spp.* (58,72%), *Corynebacterium spp.* (13,72%) e *Streptococcus spp.* (10,97%).

Vianni *et al.* (1992) encontraram 40,40% de vacas positivas ao CMT, as quais proporcionaram 52,22% de isolamento de *Staphylococcus coagulase positiva* e 16,67% de *S. coagulase negativa*.

Brant & Figueiredo (1994) encontraram uma prevalência de mastite de 42,82%, sendo que o percentual de ocorrência de microrganismos pesquisados através de exame bacteriológico, foi de 57,17% para *Staphylococcus* spp. e de 18,75% para *Streptococcus* spp..

Costa *et al.* (1996a) examinaram 2.811 vacas de municípios do Estado de São Paulo e encontraram 38,23% de *Staphylococcus* spp., 36,54% de *Corynebacterium* spp., 19,20% de *Streptococcus* spp., 2,10% de leveduras e 0,08% de *E. coli*, entre outros.

Analisando bacteriologicamente 107 amostras de leite provenientes de vacas em lactação, Costa *et al.* (1996b) isolaram 28,04% (30) de *Staphylococcus* spp., 28,97% (31) de *Corynebacterium* spp., 4,67% (5) de *Streptococcus* spp, 4,67% (5) de *Nocardia* spp. e 2,80% (3) de *Enterobacteriaceae*.

Filippesen *et al.* (1996), quando estudaram a prevalência de mastite subclínica em rebanhos leiteiros, examinaram 421 animais e detectaram 54% de animais positivos ao CMT. Das 549 amostras positivas nos exames laboratoriais, 38% foram *Staphylococcus* coagulase negativa, 34% *C. bavis*, 19% *S. aureus*, 3,0% *S. uberis*, 2,7% *Actinomyces pyogenes*, 1,7% *S. dysgalactiae*, 0,6% *S. agalactiae*, 0,6% *S. bovis* e 0,4% *Prototheca*.

Souza *et al.* (1996) submeteram 596 vacas em lactação à prova do CMT e encontraram 47,9% de mastite subclínica, sendo que, ao exame microbiológico, o *S. aureus* e o *Staphylococcus* coagulase negativa foram os agentes isolados com maior frequência.

Vargas *et al.* (1996) examinaram bacteriologicamente 668 amostras de leite provenientes de rebanho leiteiro da região de Santa Maria e encontraram 49,85% de amostras positivas, obtendo a seguinte prevalência de agentes microbianos: o *Staphylococcus* coagulase positiva (46,85%) foi o agente dominante, seguido pelo *Streptococcus* spp. (22,28%), pelo *Staphylococcus* coagulase negativa (11,65%), por bacilos Gram-negativos (7,09%), pelo *A. pyogenes*. (3,54%), por leveduras (3,29%), pela *Nocardia asteroides* (3,04%) e por outros.

Sob uma perspectiva semelhante aos trabalhos mencionados, o presente estudo tem como objetivos determinar a prevalência de mastite subclínica, isolar e identificar microrganismos em amostras de leite reagentes ao California Mastitis Test.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram submetidos ao California Mastitis Test-CMT (Schalm & Noorlander 1957), utilizando-se como reagente a solução CMT-FATEC, 942 animais em lactação, ordenhados mecanicamente proveniente de 25 propriedades de exploração de leite selecionadas aleatoriamente e localizadas em 18 municípios do Estado de Goiás. Os rebanhos constituíam-se, em sua maioria, de animais da raça holandesa, variedade preta e branca, primíparas e pluríparas, de diferentes idades, em diferentes estágios de lactação. Vacas recém-paridas, no final de lactação e aquelas submetidas à antibioticoterapia foram excluídas do presente estudo.

Após a lavagem com água e detergente neutro, a glândula mamária foi enxugada com papel-toalha e, posteriormente, submetida à antissepsia, empregando-se álcool iodado. Em seguida, foram colhidos, em tubos de ensaio de 16x160 mm com tampa de rosca de baquelite, aproximadamente 10 ml de leite dos tetos que apresentaram resultado positivo à prova do CMT com escores de +, ++ e +++. Após a colheita, os tubos, num total de 667, foram acondicionados em caixas isotérmicas, contendo gelo e transportados ao Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Imediatamente após a chegada ao laboratório, as amostras de leite reagentes ao CMT foram repicadas em ágar MacConkey e ágar sangue, contendo 7% de sangue desfibrinado de carneiro, e incubadas a 37°C, por 24-72 horas.

Diariamente, durante três dias, observou-se o tipo de crescimento bacteriano, assim como as características de cada colônia. Cada tipo de colônia foi submetido ao teste de KOH a 3% e à coloração pelo método de Gram. As bactérias Gram-negativas e Gram-positivas foram isoladas e identificadas de acordo com Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis (1987) e com Baron *et al.* (1994). Adotou-se neste trabalho o critério de Sears *et al.* (1993), segundo o qual para propósitos de prevenção e controle, em veterinária, os *Staphylococcus* coagulases positivas, *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* podem ser rotineiramente identificados como *S. aureus*. A análise estatística foi realizada por testes de hipóteses ( $X^2$ ) de acordo com Spiegel (1976).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra a distribuição de animais testados e reagentes ao CMT, assim como a média dos tetos afetados por vaca, nas 25 propriedades leiteiras trabalhadas.

Tabela 1. Distribuição dos dados relativos aos animais e tetos submetidos ao CMT, em propriedades leiteiras do Estado de Goiás, que empregam ordenhadeira mecânica, no período de novembro de 1995 a julho de 1996.

Propriedades	Animais			tetos reagentes/vaca	
	testados	reagentes		n	média
	n	n	%	n	média
1	58	12	20,7	16	3,0
2	27	10	37,0	21	1,9

Continua ...

Continuação ...

Propriedades	testados		reagentes		tetos reagentes/vaca	
	n	n	%	n	média	
3	59	21	35,6	30	2,5	
4	13	09	69,2	15	2,4	
5	45	16	35,6	34	1,4	
6	09	02	22,2	03	2,6	
7	14	03	21,4	04	3,0	
8	30	10	33,3	20	2	
9	41	18	41,9	35	2,0	
10	18	08	44,4	13	2,4	
11	29	14	48,3	19	2,9	
12	28	20	71,4	34	2,3	
13	67	17	25,4	29	2,3	
14	52	10	19,2	14	2,8	
15	35	15	42,9	29	2,0	
16	22	14	63,6	28	1,7	
17	41	12	29,3	17	2,8	
18	69	49	71,0	84	2,3	
19	28	11	39,3	21	2,0	
20	22	15	68,2	38	1,6	
21	67	36	53,7	76	1,9	
22	79	19	24,1	22	3,4	
23	11	10	90,9	29	1,8	
24	44	09	20,5	16	2,2	
25	34	15	44,1	20	3,0	
<b>TOTAL</b>	<b>942</b>	<b>375</b>	<b>39,8</b>	<b>667</b>	<b>2,2</b>	

Observa-se que a prevalência de mastite subclínica nas diferentes propriedades situou-se numa faixa de 19,2% a 90,9%, independente do tamanho do rebanho. Nota-se, ainda, que das 942 fêmeas submetidas ao CMT, 375 foram reagentes, obtendo-se portanto uma prevalência de 39,8% de fêmeas reagentes. Esse resultado situa-se na ou próximo à média da frequência encontrada em diferentes estudos realizados no Brasil conforme relatam Nader Filho *et al.* (1985) 11,9%, Vianni *et al.* (1992) 40,40%, Brant & Figueiredo (1994) 42,82%, Sousa *et al.* (1996) 47,9%, Filippesen *et al.* (1996) 54,0%.

Depreende-se, ainda, da análise da Tabela 1, que a frequência média de quartos afetados por vaca variou entre os rebanhos estudados, mas o índice foi de 2,2 tetos por vaca reagente.

Como pode ser visualizado na Tabela 2, isolaram-se de amostras de leite provenientes de vacas com mastite subclínica *Staphylococcus* spp. (43,0%), *Corynebacterium* spp. (15,4%); Gram-negativos: *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas* e *Salmonella* (14,0%), *Streptococcus* (13,6%); coliformes: *E. coli*, *Klebsiella* e *Enterobacter* (10,3%); leveduras e bolores (2,2%) e *Nocardia* (1,4%). Ressalta-se que 25 (2,6%) das amostras apresentaram resultados bacteriológicos negativos nas condições de desenvolvimento deste trabalho.

Visualiza-se ainda a predominância do *Staphylococcus* spp. sobre os demais microrganismos, com 43,0% do total de microrganismos isolados. Esses resultados encontram respaldo na literatura, pois valores de 58,72% e 57,17% foram verificados, respectivamente, nos trabalhos desenvolvidos por Langoni *et al.* (1991) e por Brant & Figueiredo (1994).

Tabela 2. Frequência dos principais grupos e gêneros de microrganismos isolados de amostras de leite provenientes de vacas em lactação com mastite subclínica, em 25 propriedades do Estado de Goiás, no período de novembro de 1995 a julho de 1996.

Microrganismos	números	frequência	
		% <sup>2</sup>	% <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus</i> spp.	403	41,8	43,0
<i>Corynebacterium</i> spp. <sup>1</sup>	144	14,9	15,4
<i>Streptococcus</i> spp.	128	13,3	13,6
Coliformes: <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> e <i>E. coli</i>	97	10,1	10,3
Outros Gram-negativos: <i>Citrobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Serratia</i> , <i>Samonella</i> e <i>Proteus</i>	131	13,6	14,0
Leveduras e bolores	21	2,2	2,2
<i>Nocardia</i> spp.	14	1,5	1,5
Amostras sem crescimento	25	2,6	-
Total	963	100,0	100,0

1 - *O. C. pyogenes* está incluído no gênero *Corynebacterium*.

%<sup>2</sup> - Em relação ao número total de isolamentos incluindo amostras sem crescimento.

%<sup>3</sup> - Em relação ao número total de microrganismos isolados.

Na segunda posição, *Corynebacterium* spp. aparece em 15,4% dos casos, resultado que confirma os achados por Andrade *et al.* (1984/85/86), de 16,53%, e por Langoni *et al.* (1991), de 13,72%. Entretanto, Costa *et al.* (1996a) e (1996b) encontraram valores mais altos, de 36,54% e 28,97%.

Verifica-se, também, na Tabela 2, que os bastonetes Gram-negativos, incluindo os coliformes, apresentaram percentual de 24,3%. Esses resultados aproximam-se dos 20,7% encontrados por Elliot *et al.* (1976), citados por Fox (1993). No entanto, foram superiores aos 7,09% detectados por Vargas *et al.* (1996).

Observa-se, ainda, que o *Streptococcus* (13,6% dos casos) apareceu em terceiro lugar na seqüência dos gêneros classificados, sendo responsabilizado como um dos principais gêneros causadoras de mastite, não necessariamente nessa ordem ou frequência, como foi observado por Nader Filho *et al.* (1985) 26,8%, Andrade *et al.* (1984/85/86) 14,96%, Langoni *et al.* (1991) 10,97%, Brant & Figueiredo (1994) 18,75%, Costa *et al.* (1996a) 19,20% e Vargas *et al.* (1996) 22,28%.

As diferenças encontradas nos resultados das frequências dos diversos agentes, quando comparadas com vários trabalhos levantados, podem ser atribuídas não somente a fatores genéticos como raça e susceptibilidade individual, mas também a questões ambientais, em especial àquelas determinadas pela ação humana, tais como sistema de criação, manejo, higiene e nível de exposição e, ainda, a determinantes do agente como patogenicidade, invasibilidade e infecciosidade, contagiosidade, entre outros, o que reafirma a complexidade da enfermidade e seu aspecto multifatorial.

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos no presente estudo de forma ampliada e chegando à espécie e aos gêneros de microrganismos, isolados no leite de vacas com mastite subclínica.

Tabela 3. Resultados de exames microbiológicos realizados a partir de 667 amostras de leite provenientes de vacas em lactação com mastite subclínica, em 25 propriedades leiteiras do Estado de Goiás, no período de novembro de 1995 a julho de 1996.

Microrganismos	número	frequência %
<i>S. aureus</i>	291	30,2
<i>C. bovis</i>	120	12,5
<i>S. coagulase negativa</i>	112	11,6
<i>Streptococcus agalactiae</i>	14	1,5
<i>Streptococcus uberis</i>	36	3,7
<i>Streptococcus pyogenes</i>	12	1,2

Continua ...



Continuação ...

Microrganismo	número	freqüência %
<i>Streptococcus</i> spp. <sup>1</sup>	66	6,9
<i>Pseudomonas</i> spp.	96	10,0
<i>C. pyogenes</i>	24	2,5
<i>E. coli</i>	60	6,2
<i>Enterobacter</i> spp.	30	3,1
<i>Citrobacter</i> spp.	24	2,5
<i>Nocardia</i> spp.	14	1,5
<i>Klebsiella</i> spp.	07	0,7
<i>Proteus</i> spp.	07	0,7
<i>Serratia</i> spp.	02	0,2
<i>Salmonella</i> spp.	02	0,2
Leveduras e bolores	21	2,2
Amostra sem crescimento	25	2,6
Total	963	100,0

1 - Não classificados; % = números de isolamentos / número total de isolamentos.

Na Tabela 3 e na Figura 1, verifica-se que o *S. aureus* (30,2%) e o *S. agalactiae* (1,5%), patógenos "maiores", totalizam 31,7%. O *C. bovis* (12,5%) e o *Staphylococcus* coagulase negativa (11,6%), patógenos "menores", somam 24,1%. O conjunto desses microrganismos tidos como contagiosos perfazem um total de 55,8%, e enquanto os ambientais - *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Nocardia* spp., *C. pyogenes*, leveduras e bolores - somaram 41,6%. Verifica-se, pelos resultados obtidos, que tanto os agentes infecciosos transferidos de vaca a vaca, durante a ordenha, quanto os ambientais carreados do ambiente à vaca, principalmente no intervalo entre ordenhas, estão contribuindo para infecções intramamárias nos rebanhos estudados.

Com a aplicação do teste qui-quadrado aos valores obtidos para os agentes contagiosos (55,8%), evidenciou-se um valor de  $X^2 = 19,2$  para a variação de agentes contagiosos e ambientais, indicando, portanto, que a referida variação ao nível de 5% de probabilidade foi significativa (Figura 1).

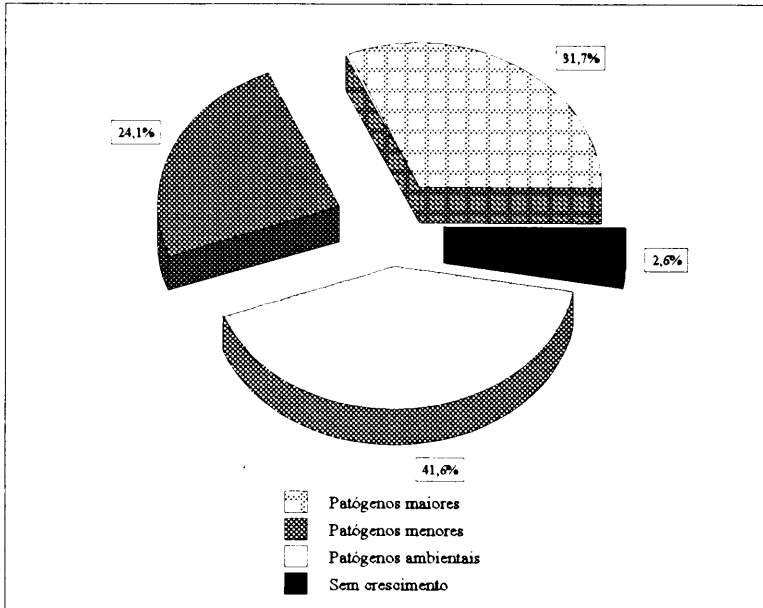


Figura 1. Distribuição de patógenos isolados de amostras de leite oriundo de vacas reagentes ao CMT.

A Tabela 3 evidencia a predominância do *S. aureus* (30,2%) dentre os microrganismos isolados, o que vem ratificar a literatura de diferentes países, como indicado nos trabalhos de Kinabo & Assey (1983), Bramley *et al.* (1987), Berthelot & Bergonier (1994), Fox (1994) e Sousa *et al.* (1996).

Nos estudos realizados no Brasil foram encontrados as seguintes frequências: Andrade *et al.* (1984/85/86) 67,70%, Nader Filho *et al.* (1985) 52,1%, Langoni *et al.* (1991) 35,53% e Filippesen *et al.* (1996) 19%. Outros pesquisadores, tais como Vianni *et al.* (1992) e Vargas *et al.* (1996), apresentaram seus resultados como *Staphylococcus* coagulase positiva, encontrando 52,22 e 46,85%, respectivamente.

Na categoria dos contagiosos, o *C. bovis* (12,5%) foi o agente mais isolado após o *S. aureus*, sendo considerado por alguns pesquisadores, como Oliver & Juneja (1990), um agente inofensivo da glândula mamária, que determina aumento moderado na contagem de células somáticas (Fox & Gay 1993). No entanto, evidenciou-se nesse estudo uma frequência de moderada para alta (12,5%), sendo que Langoni *et al.* (1991) detectaram 9,23%, Costa *et al.* (1985) 29,55% e Filippesen *et al.* (1996) 34%. Essa variação talvez possa ser entendida em parte pela diferença existente na susceptibilidade genética dos animais e, ainda, pela ação do próprio homem que tem combatido os patógenos clássicos causadores de mastite e permitido que outros organismos se

instalem e provoquem doenças. Por outro lado, deve-se considerar que essa bactéria encontra-se em animais aparentemente saudáveis (Costa *et al.* 1985), ressaltando-se que, de acordo com Blood & Radostits (1989), as medidas higiênicas também interferem na prevalência desse agente, já que ele é bastante sensível a desinfetantes.

Nota-se, também, na Tabela 3 que o *Staphylococcus coagulase negativa* apresentou frequência de 11,6%, valor que pode ser considerado intermediário entre os obtidos por: Vargas *et al.* (1996) 11,65%, Andrade *et al.* (1984/85/86) 14,96%, Berthelot & Bergonier (1994) 15%, Vianni *et al.* (1992) 16,67%, Langoni *et al.* (1991) 23,19% para o *S. epidermidis* e Filippesen *et al.* (1996) 38%. Observa-se que a frequência dos *Staphylococcus coagulase negativa* nos trabalhos pesquisados é bastante variável (11,6 a 38%), o que talvez possa ser explicado pelos critérios de antisepsia adotados na coleta das amostras. Para alguns estudiosos, trata-se de um organismo oportunista, habitante natural da pele do úbere, do canal do teto (McDonald 1984, Laboratory and Field... 1987) e também da glândula mamária, uma vez que esse agente foi isolado de leites provenientes de glândulas aparentemente saudáveis (Baba *et al.* 1980), citados por Watts 1988). Ressalta-se, entretanto, que Beloti *et al.* (1991) reconheceram a atividade mastitogênica deste patógeno "menor".

Dentre os bastonetes Gram-negativos, como pode ser observado na Tabela 3, a *Pseudomonas spp.* apareceu com uma frequência de 10,0%, resultado superior aos 2,27% detectados por Langoni *et al.* (1991). Tal frequência relativamente alta de isolamentos pode ser parcialmente atribuída à alta exposição dos animais a esses bastonetes, eventualmente presentes na água e no solo (Pankey 1989, Kirk 1992), e a procedimentos insatisfatórios na higiene.

## CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo, os resultados permitem concluir que utilizando-se o CMT como método de diagnóstico de mastite subclínica em 25 rebanhos leiteiros de propriedades do Estado de Goiás, que utilizam ordenhadeira mecânica na obtenção do leite, observou-se uma prevalência de 39,8%, sendo que o índice médio de tetos reagentes por animal testado foi de 2,2. Os resultados bacteriológicos mostraram o *Staphylococcus spp.* como o gênero predominante isolado das mastites subclínicas, sendo o *S. aureus* a espécie mais identificada. Na segunda posição apareceu o gênero *Corynebacterium spp.*, especialmente *C. bovis*; os *Streptococcus spp.* vieram em terceiro lugar na seqüência dos gêneros classificados. A *Pseudomonas spp.* e os coliformes tiveram, também, uma participação efetiva nos processos infecciosos da glândula mamária; o isolamento de *Nocardia spp.*, (1,5%) constituiu um aspecto relevante. Tanto os agentes contagiosos *S. aureus*, *S. agalactiae*, *C. bovis* e *S. coagulase negativa*, quanto os ambientais *Streptococcus spp.*, *S. uberis*, *S. pyogenes*, *Pseudomonas spp.*, *C.*

*pyogenes*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Nocardia* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Salmonella* spp., leveduras e bolores estão contribuindo para as infecções intramamárias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, M. A., F.C. Dias Filho & R. R. Costa. 1984/85/86. Mastite bovina na bacia leiteira de Goiânia. Anais Esc. Agron. Vet., UFG. 1:69-8.
- Baron, E. J., L. R. Peterson & O M. Finegold. 1994. Diagnostic microbiology.. Missouri, Mosby. 958 p.
- Beloti, V., E. E. Muller, J. Megid, L. C. Rocha, E. Mettifogo & J. C. Freitas. 1991. Ocorrência e caracterização de estafilococos coagulase negativos em mastite subclínica no norte do Paraná, Brasil. Semina, 12 ( 1 ) : 49-2.
- Berthelot, X. & D. Bergonier. 1994. Mamites e qualidade do leite. Hora Vet., 79:59-6.
- Blood, D. C. & O. M. Radostits. 1989. Veterinary medicine. 7. ed. Londres, Bailliere Tindall. 1263 p.
- Bramley, A. J. 1987. El rol de la higiene en la prevención de la infección intramamaria, p. 61-75. In: A. J., Bramley, F.H. Dodd & T.K. Griffin. ( Ed.). Control de mastitis y manejo del rodeo. Montivideo, Agropecuária Hemisferio Sur. 128 p.
- Brant, M. C. & J. B. Figueiredo. 1994. Prevalência da mastite subclínica e perdas de produção em vacas leiteiras. Arq. Bras. Med.. Vet. Zoot., 46 (6) : 596-6.
- Costa, E. O., V. M. Carvalho, S. D. A. Coutinho, W. Castilho & L. F. L. Caramori. 1985. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no Estado de São Paulo. Pesq. Vet. Bras., 5 (4): 117-0.
- Costa, E. O., P. A. Melville, A. R. Ribeiro, F. C. Viani, R. Mascoli & P. J. Oliveira. 1996a. Mastite bovina: CMT versus microbiológico. Hora Vet., 89:53- 4.
- Costa, E. O., A. R. Ribeiro, E. T. Watanabe, R. B. Pardo, J. B. Silva & R. B. Sanches. 1996b. An increased incidence of mastitis caused by *Prototheca* species and *Nocardia* species on a farm in São Paulo, Brazil. Vet. Research Comm., 20: 237-1.
- Cullor, J. S., J. W. Tyler & B. P. Smith. 1993. Distúrbios da glândula mamária, p.1041-1060. In B.P. Smith.(Ed). Tratado de medicina interna dos grandes animais. São Paulo, Manole. 2173 p.
- Filippesen, N. L., F. B. Moreira, A. T. Sakashita, N. F. Zapaloni & J. R. F. Brito. 1996. Prevalência da mastite subclínica em rebanhos leiteiros no norte do Paraná, p.127. In Resumos Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 24, Goiânia-GO. 251 p.

- Fox, L. K.** 1993. Introduction to coliform mastitis. p.7-9. In Coliform Mastitis Symposium. Washington State University, Fox & Gay . 56 p.
- Fox, L. K. & J. L. Gay.** 1993. Contagious mastitis. Vet. Clin. N. Amer:Food Animal Practice , 9 (3): 475-87.
- Fox, L. K.** 1994. *Staphylococcus aureus* mastitis heifers and cows, p.39-3. In National Mastitis Council, Regional Meeting Proceedings. 249 p.
- Gay, J. M.** 1993. Epidemiology of coliform mastitis: an overview, p.10-5. In Coliform Mastitis Symposium. Washington State University, Fox & Gay. 56 p.
- Kinabo, L. D. B. & R. J. Assey.** 1983. Bovine mastitis in selected dairy farms in Morogoro District, Tanzania, Beiträge Trop., Landwirtsch Veterinarmed 1: 65-1.
- Kirk, J. H.** 1992. Diagnosis and treatment of difficult mastitis cases, p.26-38. In National Mastitis Council, 31th Annual Meeting. 248 p
- Kirk, J. H. & P. C. Bartlet.** 1986. Bovine mycotic mastitis. Comp. Cont. Ed., 8 (11):106.
- Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis.** 1987. Arlington VA, National Mastitis Council. 208 p.
- Langoni H., P. F. Domingues, M. P. Pinto & F. J. P. Listoni.** 1991. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot., 43 (6): 507-15.
- McDonlad, J. S.** 1984. Streptococcal and staphylococcal mastitis. Vet. Clin. N. Am.: Large Animal Practice, 6 (2): 269-85.
- Nader Filho, A., R. P. Schocken-Iturrino, O. D. Rossi Júnior & E. M. Cembranelli.** 1985. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto. Pesq. Vet. Bras., 5 (2): 53-6.
- Oliver, S. P. & V. K. Juneja.** 1990. Growth of *Corynebacterium bovis* in mammary secretions during physiological transitions of the bovine mammary gland. Dairy Sci., 73 (2): 351-6.
- Pankey, J. W.** 1989. Mastitis - two different diseases: contagious and environmental, p.167-3. In National Mastitis Council, 29th Annual Meeting. 328 p.
- Schalm, O. M. & D. O. Noorlander.** 1957. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Assoc., 130 (5): 199-4.
- Sears, P. M., R. N. Gonzalez, D. J. Wilson & H. R. Han.** 1993. Procedures for mastitis diagnosis and control. Vet. Clin. N. Amer.: Food Animal Practice, 9 (3): 445-67.
- Smith, K. L. & J. S. Hogan.** 1993. Environmental mastitis. Vet. Clin. N. Amer.: Food Animal Practice, 9 (3): 489-8.
- Smith, K. L., J. S. Hogan & D. A. Todhunter.** 1993. Management strategies to control coliform mastitis, p.41-5. In Coliform Mastitis Symposium, Washington State University, Fox & Gay. 56 p.

- Souza, R. M., M. H. T. Liberal, H. Magalhães, A. G. Ribeiro, L. S. Carvalho & W. Moreno. 1996.** Estudo comparativo entre o exame bacteriológico e métodos indiretos para detecção da mastite bovina subclínica, p.122. In Resumos Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 24, Goiânia, GO. 251 p.
- Spiegel, M. R. 1976.** Estatística. Rio de Janeiro, Livro Técnico. 558 p.
- Vargas, A. C., A. Lazzari, V. Dutra, L. H. N., Weiss, G. L., Ferreira & L. A. S. Flores. 1996.** Agentes infecciosos mais prevalentes em mastite bovina na região de Santa Maria, RS - Perfil de sensibilidade *in vitro*, p.119. In Resumos Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 24, Goiânia-GO. 251 p.
- Vianni, M. C. E., A. Nader Filho & J. Langenegger. 1992.** Frequência de isolamento de *Staphylococcus* coagulase positiva e coagulase negativa na mastite subclínica em bovinos e sua influência na produção láctea. Arq. Univ. Fed.. Rur. Rio de Janeiro, (15): 113-9.
- Watts, J. L. 1988.** Etiological agents of bovine mastitis. Vet. Microbiol., (6): 41-66.