

RELAÇÃO ENTRE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS), CALIFÓRNIA MASTITIS TEST (CMT) E ISOLAMENTO BACTERIANO EM LEITE BOVINO *IN NATURA*

MENDES, Josiara Furtado¹, FERREIRA, Gracialda Ferreira², GONZALEZ, Helenice de Lima², MEIRELES, Mario Carlos Araújo²

¹Bolsista de Iniciação Científica pelo CNPq do Laboratório de Micologia– IB/UFPEL, Campus Universitário, s/nº, CEP 96010-600, Capão do Leão/RS josiara.mds@hotmail.com;

²Faculdade de Veterinária, UFPEL;

NASCENTE, Patrícia da Silva³

³Prof.^a do Instituto de Biologia, UFPEL.

1 INTRODUÇÃO

O leite é considerado o mais nobre dos alimentos e por sua composição rica em proteína, gordura, carboidratos, sais minerais e vitaminas, proporciona nutrientes e proteção imunológica para o neonato (MENDONÇA Et al., 1999). A qualidade do leite *in natura* é influenciada por muitas variáveis, entre as quais se destacam fatores zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos rebanhos e fatores relacionados à obtenção e armazenagem do leite. Uma das causas que exerce influência extremamente prejudicial sobre a composição e as características físico-químicas do leite é a mastite, acompanhada por um aumento na contagem de células somáticas (CCS) no leite (KITCHEN, 1981).

A mastite é considerada a doença que mais onera a produção de leite, acarretando graves prejuízos econômicos aos produtores e à indústria leiteira (MONARDES, 1994). Entretanto, muitos produtores ainda não se preocupam com este problema, talvez por desconhecerem as perdas decorrentes desta enfermidade (COSTA Et al., 2000). DOMINGUES (1993) demonstrou que através do diagnóstico precoce e com um tratamento adequado sobre a mastite subclínica, a produção de leite do quarto mamário afetado se restabelece em uma mesma lactação. O aumento na CCS é a principal característica utilizada para o diagnóstico da mastite subclínica e para a sua observação, destacam-se o CMT (*Califórnia Mastitis Test*), o WMT (*Wisconsin Mastitis Test*) e a contagem eletrônica de células somáticas (RUPP Et al., 2000).

Células somáticas são normalmente células de defesa do organismo presentes no leite, principalmente leucócitos, que migram do sangue para o interior da glândula mamária combatendo agentes agressores. Esta migração normalmente é resultado da ocorrência de mastite (MACHADO Et al., 1999). DOHOO e LESLIE (1991) avaliaram a CCS de vacas e observaram que o limite de 200.000 células/mL foi o mais indicado para estimar uma nova infecção intramamária.

O CMT se baseia no aumento de células somáticas presentes no leite que reagem com um detergente aniônico. É uma prova de diagnóstico realizada em uma bandeja especial, tipo raquete. A avaliação consiste na seguinte classificação: Leite normal quando for classificado como traços ou negativo. Ou leite anormal quando for classificado como 1, 2 ou 3 cruces (INTERVET, 2009). Estes resultados são fundamentais para a compreensão dos problemas específicos dos rebanhos, para orientar medidas racionais de controle da mastite e sugerir alterações a respeito do manejo adotado (RADOSTITIS Et al., 1994; BRAMLEY Et al., 1996). Dentre os principais microrganismos envolvidos com a mastite bovina e conseqüentemente

com o aumento das CCS encontra-se o *Staphylococcus aureus*, sendo o agente isolado em maior frequência, seguido pelos patógenos ambientais como *Streptococcus agalactiae* e as enterobactérias (HARMON, 1994).

Com base no conhecimento destas metodologias para verificação de mastite subclínica o objetivo deste estudo foi verificar e comparar os resultados observados através das três técnicas previamente descritas utilizadas nas mesmas amostras de leite, obtidos dos animais.

2 METODOLOGIA

Foram selecionadas 11 vacas, com resultados positivos no CMT ao menos em um teto, em diferentes estágios de lactação, nas propriedades de Pelotas – RS. Nos animais selecionados foram realizados teste de CMT, coleta de leite para CCS e coleta de leite para isolamento bacteriano, sendo esse último apenas dos quartos positivos ao CMT. O resultado do CMT foi determinado grau de gelatinização ou viscosidade da mistura de partes iguais de leite e reagente (2 ml cada) e os resultados apresentados em escores negativos ou positivos sendo esses nos graus +, ++, ++++. Para a CCS foram coletadas amostras de leite compostas dos quatro quartos mamários diretamente em frascos específicos contendo conservante e para o isolamento bacteriano utilizou-se frascos esterilizados sem conservante para cada teto com resultado positivo no CMT.

A CCS dos animais foi realizada na EMBRAPA CLIMA TEMPERADO-Laboratório de qualidade do leite. O exame microbiológico foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Biologia - UFPel. As amostras de leite foram semeadas em Ágar Sangue, incubadas por 24 horas à temperatura de 36°C. As bactérias foram identificadas através de morfologia pela confecção de esfregaço corado por Gram e posteriormente aos testes bioquímicos apropriados como catalase, coagulase e assimilações de carboidratos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram considerados os 11 animais (44 tetos), dos quais se observou CMT negativo em 18 (40,9%) e positivo em 26 (59,1%) tetos. O CMT positivo variou nas três classificações (+, ++, +++), sendo + 34,1%, ++ 20,5% e para +++ 4,5% e a CCS variou de 72 células/mL a 1.212 células/mL. O isolamento ocorreu em 22 (92,3%) das 26 amostras de leite positivas ao CMT. Em dez amostras de leite observou-se o isolamento de *Corynebacterium* sp., em duas isolou-se *Streptococcus* sp., em três *Streptococcus uberis*, em cinco animais observou-se *Staphylococcus* sp. coagulase negativa e em dois, *Staphylococcus* sp. coagulase positiva. De acordo com a literatura, os microrganismos isolados em mastite bovina que se destacam são *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e *E. coli* (BRITO Et al., 2001). Segundo FAGUNDES e OLIVEIRA (2004), *S. aureus* seria a bactéria causadora de mastite de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antibióticos. Mastites causadas por estes patógenos resultam em grandes variações na composição do leite e na CCS (HARMON, 1994). Os microrganismos envolvidos na etiologia da mastite bovina podem ser classificados em patógenos “maiores” e “menores”. Na primeira categoria estão incluídos os agentes que provocam aumento maior na CCS, alterações significativas na composição do leite e, conseqüentemente, grande impacto econômico. Os principais são os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*,

Pseudomonas sp., *Actinomyces pyogenes* e *Serratia* sp. Estafilococos coagulase negativos e *Corynebacterium bovis* são considerados patógenos “menores” e promove inflamação moderada com aumento da CCS (HARMON, 1994).

Após obtenção dos resultados de ambos os testes, se fez uma comparação, dividindo os resultados da CCS em três grupos: (a) CCS abaixo de 200.000 células/mL (b) acima de 200.000 células/mL e abaixo de 500.000 células/mL (c) acima de 500.000 células/mL. E observando os resultados de CMT foi considerado: (1) teto com +; (2) teto com ++ e (3) teto com +++. A distribuição dos resultados pode ser verificada na Tabela 1.

A CCS é influenciada por vários fatores, mas especialmente pela presença de infecções intramamárias, tornando-se um indicador bastante confiável de sanidade da glândula mamária. Entretanto, existem outros fatores que podem interferir na CCS e dentre eles, pode-se citar a idade da vaca, estações do ano, estresse, estádios de lactação, entre outros. Os estádios de lactação estão associados a variações na CCS em vacas livres de infecção na glândula mamária (MACHADO Et al., 1999), e esta influência pode ocorrer tanto no início quanto no final da lactação. No início da lactação, observa-se um acréscimo no valor da CCS devido à presença de imunoglobulinas e conseqüentemente de células de defesa. No final da lactação, também se verifica um acréscimo na CCS, devido a uma maior descamação natural do epitélio da glândula mamária (HARMON 1994; MONARDES, 1994). O conhecimento dos fatores que influenciam nas infecções da glândula mamária é importante para o correto diagnóstico da mastite (RUPP Et al., 2000). No animal 4 que apresentou CCS alta e resultados positivos no CMT não se observou isolamento bacteriano. O que pode ser justificado pelo animal se apresentar em período inicial de lactação.

Os animais que apresentaram apenas um teto com CMT positivo (grau: +) tiveram as CCS entre a classificação a e b. Entretanto, nem todos os animais com alta CCS, apresentaram valores maiores ao CMT. Assim como não houve relação entre o microrganismo isolado e a CCS alta.

Tabela 1: Descrição dos resultados de CCS, CMT e isolamento bacteriano de cada animal estudado

Vaca	Resultado CMT	CCS	Isolamento
Animal 1	++ (2)	528 (c)	<i>Streptococcus</i> sp.
Animal 1	++ (2)	528 (c)	<i>Staphylococcus</i> sp.
Animal 1	+ (1)	528 (c)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 2	++ (2)	281 (b)	<i>Staphylococcus</i> sp.
Animal 2	++ (2)	281 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 2	+ (1)	281 (b)	<i>Staphylococcus</i> sp.
Animal 3	+ (1)	1212 (c)	<i>Streptococcus uberis</i>
Animal 3	+ (1)	1212 (c)	<i>Staphylococcus</i> sp.
Animal 3	+ (1)	1212 (c)	<i>Streptococcus uberis</i>
Animal 3	++ (2)	1212 (c)	<i>Streptococcus uberis</i>
Animal 4	+ (1)	611 (c)	-
Animal 4	+ (1)	611 (c)	-
Animal 4	++ (2)	611 (c)	-
Animal 5	+ (1)	180 (a)	<i>Streptococcus</i> sp.
Animal 6	+ (1)	310 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 7	+ (1)	92 (a)	<i>Staphylococcus coagulase</i> +
Animal 8	+ (1)	494 (b)	-
Animal 8	+ (1)	494 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 8	++ (2)	494 (b)	<i>Staphylococcus</i> sp.
Animal 8	++ (2)	494 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 9	+++ (3)	304 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 9	+ (1)	304 (b)	<i>Staphylococcus coagulase</i> +

Animal 10	+++ (3)	709 (c)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 11	+(1)	215 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 11	++(2)	215 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.
Animal 11	+ (1)	215 (b)	<i>Corynebacterium</i> sp.

4 CONCLUSÕES

A análise feita nas amostras de leite indicou a presença de bactérias causadoras de mastite como *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp. em leites com CMT positivo e com CCS elevada. Entretanto não se pode avaliar, no número amostrado, nenhuma relação entre os resultados de CMT, CCS e as bactérias isoladas, sendo necessários estudos posteriores nesse sentido.

5 REFERÊNCIAS

- BRAMLEY, A. J.; CULLOR, J. S.; ERSKINE, R. J.; FOX, L. K.; HARMON, R. J.; HOGAN, J. S.; NICKERSON, S. C.; OLIVER, S. P.; SMITH, K.L.; SORDILLO, L. M. **Current of Bovine Mastitis**. 4th ed. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64p.
- BRITO, J.R.F. Coleta de amostras de leite para determinação da composição química e contagem de células somáticas. Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 2001. 16p. Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 62.
- COSTA, E. O. *et al.* Estudo da etiologia das mastites bovinas nas sete principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo. **Napgama**, São Paulo, Ano III, no. 4, p. 6 – 13, 2000.
- DOHOO, I.R.; LESLIE, K.E. Evaluation of chages in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. **Preventive Veterinary Medicine**.v.10, p.225-237, 1991.
- DOMINGUES,P.F. **CONTROLE DA PRODUÇÃO LEITEIRA NA MASTITE BOVINA SUBCLÍNICA**. Dissertação(mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,SP, 1993,PP.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 34, n.4, p. 1315-1320, 2004.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.
- INTERVET **Schering-Plough Animal Health** Disponível em: <http://www.intervet.com.br/Doencas/Mastites/040_Diagnostico.aspx > Acesso em: 07 de julho de 2010.
- KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v.48, n. p.167-188, 1981.
- MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIÉS, G.A. Efeitos da contagem de células somáticas na qualidade do leite e a atual situação de rebanhos brasileiros. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.54, n.309, p.10-16, 1999.
- MENDONÇA, C.L.; FIORAVANT, M.C.S.; SILVA, J.A.B.A. Etiologia da mastite bovina. **Veterinária Notícias**, v.5, n.1, p.107-118, 1999.
- MONARDES, H. Somatic cell counting and Genetic Improvement of Resistance to Mastitis. In: **REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 31, 1994, Maringá. *Anais....*Maringá: UEM, 1994. p. 1-19.
- RADOSTITIS, O. M.; LESLIE, K. E.; FETROW, J. **Mastitis control in dairy herds**. In: RADOSTITIS, O. M.; LESLIE, K. E.; FETROW, J. **Herd health food animal production medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p.229-276.
- RUPP, R.; BEAUDEAU, F.; BOICHARD, D. Relationship between milk somatic-cell counts in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 46, p. 99-111. 2000.