

Resumo 43 - COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE CONTAGEM ELETRÔNICA E CONTAGEM MICROSCÓPICA NA ENUMERAÇÃO DE CÉLULAS SOMÁTICAS PRESENTES EM LEITE DE CABRA.

COMPARISON OF SOMATIC CELLS COUNT OF GOAT MILK BY THE ELECTRONIC METHOD WITH DIRECT MICROSCOPIC METHOD.

Darciane Rodrigues Fernandes¹; Viviane Maria Dias Costa²; Liana Maria Ferreira Silva³; Adriano Rodrigues Lima⁴; Raymundo Rizaldo Pinheiro⁵; Viviane de Souza⁶

¹Graduanda em Tecnologia em Alimentos - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, IFCE/Sobral, CE - Bolsista PIBIC/CNPq/EMBRAPA. E-mail: darciane_rodrigues@hotmail.com ²Graduanda em Medicina Veterinária - Instituto Superior de Teologia Aplicada /Sobral, CE - Bolsista BICT/FUNCAP/Embrapa ³Assistente A da Embrapa Caprinos e Ovinos – Sobral – CE ⁴Analista, EMBRAPA Caprinos e Ovinos – Sobral-CE ⁵Méd. Vet., D.Sc., Pesquisador da da Embrapa Caprinos e Ovinos – Sobral – CE ⁶Méd. Vet., D.Sc., Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos – Sobral - CE

Introdução: A mastite, processo inflamatório da glândula mamária, é considerada uma enfermidade de grande importância nos sistemas de exploração pecuária, devido aos prejuízos causados pela redução na produção e pela baixa qualidade do leite produzido. Esta enfermidade pode ser classificada em clínica e subclínica de acordo com a intensidade do processo. Espécies de estafilococos coagulase-negativos (ECN) estão sendo identificadas com maior frequência nos casos de mastite subclínica em caprinos. Porém, estafilococos coagulase-positivos (ECP) são de extrema importância quando relacionadas à saúde pública. Os caprinos possuem glândulas com tipo de secreção apócrina que durante a lactação liberam corpúsculos resultantes do desprendimento das células do epitélio de revestimento dos alvéolos. Estas estruturas possuem características morfológicas semelhantes a leucócitos fazendo com que o leite de cabras não infectadas tenha Contagem de Células Somáticas (CCS) superior ao leite de vacas não infectadas. Diante do exposto, objetivou-se com este estudo comparar o número de CCS obtidos pelos métodos de contagem direta em microscópio e contagem eletrônica, em relação à avaliação microbiológica (considerada o melhor teste para o diagnóstico das infecções intramamárias).

Material e Métodos: Foram colhidas 240 amostras de leite das metades mamárias de 30 cabras da raça Saanen e Anglo Nubiana pertencentes ao rebanho da Embrapa Caprinos e Ovinos, de acordo com os procedimentos recomendados pelo National Mastitis Council, para isolamento e identificação bacteriana, bem como para a realização de esfregaços para a contagem de células somáticas pelo método microscópico. Após crescimento em placa com ágar Baird-Parker, 3 a 5 colônias foram selecionadas para cultivo em ágar nutriente inclinado por 24 horas a 37°C. Em seguida, foram preparados esfregaços pelo método de Gram e as culturas que se apresentaram em forma de cocos Gram-positivos agrupados no formato “cacho de uva” foram submetidas às provas de catalase, coagulase livre e produção de acetoina (VP). A determinação da CCS microscópica foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Zeng et al. (1), utilizando-se o corante pyronina Y - verde de metila. Para a determinação da CCS pelo método eletrônico, as amostras foram colhidas em recipientes próprios acrescidos de uma pastilha do conservante Bronopol[®] e enviadas ao Laboratório Progene, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As análises foram realizadas por meio do aparelho Combi 2500 (Bentley Instruments, Chaska, MN, EUA).

Resultados e Discussão: Das 240 amostras de leite analisadas, verificou-se 82 (34,2%) amostras com presença de micro-organismos e, dessas, foram identificadas 73 (89,0%) estirpes de ECN, e 9 (11,0%) amostras de ECP. Esse estudo corrobora com trabalhos, que

afirmam que as bactérias ECN são as que mais causam a mastite subclínica em cabras. No método microscópico os valores apresentados foram de 4.000 a 9.196.000 CS/mL, com média de 499.000 CS/mL. Já o método eletrônico apresentou valores entre 1.000 a 8.114.000 CS/mL com média de 983.000 CS/mL. Observou-se que o aparelho eletrônico superestimou aproximadamente em 2 vezes a CCS microscópica. Partindo do princípio de que o método microscópico é o padrão de referência para CCS, nas condições de infecção intramamária, ou seja, quando houve o isolamento de micro-organismos, a média de CS/mL foi 447.000 CS/mL. Apesar de não existirem padrões estabelecidos pela legislação brasileira do número máximo de células somáticas em leite de cabra, contagens a partir de 1.000.000 CS/mL têm sido utilizadas como base para detectar leite de animais com mastite. Das amostras de leite positivas microbiologicamente, 26 (32%) apresentaram CCS (pelo método microscópico) acima desse valor, conforme dados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição de estafilococos coagulase-negativos (ECN) e estafilococos coagulase-positivos (ECP), em número absoluto e respectiva porcentagem, encontrados no cultivo microbiológico de amostras de leite de acordo com a CCS pelo método microscópico, em cabras. Sobral-CE, Junho a Julho de 2014.

Leite	CCS microscópica		Total
	Acima de 1.000.000 CS/mL	Abaixo de 1.000.000 CS/mL	
Micro-organismos			
ECN	23 (88,5%)	50 (89,3%)	73
ECP	3 (11,5%)	6 (10,7%)	9
Total	26	56	82

Conclusões: No presente estudo verificou-se que o teste mais confiável para a enumeração das células somáticas em cabras, é o método microscópico, utilizando o corante pyronina Y - verde de metila. Porém, é um método laborioso e demorado.

Agradecimentos: Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP; Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa (CNPq); Embrapa.

Referências:

1. Zeng SS, Escobar EN, Hart SP, Hinckley L, Baulthaus M, Robinson GT, Jahnke G. Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk. *Small Ruminant Research*. 1999; 21:103-07.