

Avaliação da ocorrência de patógenos causadores de mastite subclínica, parâmetros físico-químicos e CCS de amostras de leite caprino

Evaluation of the occurrence of pathogens causing subclinical mastitis, physical-chemical parameters and CCS of samples of goat milk

Daiane dos Santos Pinto¹; Francisca Reinaldo de Sousa²; Claudelice Oliveira Rosa Nobre³; Patrícia Yoshida Faccioli Martins⁴; Viviane de Souza⁵

¹ Aluna do Curso de graduação em Tecnologia em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, IFCE – Sobral-CE, Bolsista PIBIC/CNPq/EMBRAPA – e-mail: daianesp2013@gmail.com

² Aluna do Curso de graduação em Farmácia do Instituto Superior de Teologia Aplicada – Sobral – CE, Bolsista BICT/FUNCAP/Embrapa

³ Mestranda em Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral-CE

⁴ Pesquisadora, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE

⁵ Pesquisadora, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE

Resumo

Na caprinocultura leiteira a mastite é considerada uma das mais importantes enfermidades, pois afeta a qualidade do leite, diminui a produtividade e eleva os custos de produção. O objetivo desse estudo foi analisar a ocorrência de patógenos causadores de mastite subclínica e avaliar os parâmetros físico-químicos bem como a Contagem de Células Somáticas (CCS) de amostras de leite caprino. Foram coletadas 142 amostras de leite durante o período de junho e julho de 2016, de 20 cabras em lactação, das raças Saanen e Anglo-nubiana. Os resultados médios obtidos para a composição do leite foram 2,4% de gordura; 3,0% de proteína; 4,0% de lactose; 10,2% de sólidos totais; 7,8% de sólidos não gordurosos e 193.000 CS/mL. Das 142 amostras avaliadas verificou-se que em 23 (16,2%) houve isolamento de micro-organismos, sendo confirmados bioquimicamente 19 (82,6%) cepas de estafilococos coagulase-negativos e 4 (17,4%) de estafilococos coagulase-positivos. Os resultados obtidos reforçam a importância de um programa de controle de mastite, com adoção de Boas Práticas Agropecuárias, para a melhoria da qualidade do leite no rebanho estudado.

Palavras-chave: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, Cabra.

Introdução

O leite de cabra e seus derivados possuem características organolépticas peculiares e podem oferecer vantagens nutricionais quando comparado ao leite de vaca, por ser um alimento hipoalergênico e de fácil digestibilidade, além de poder ser consumido por pessoas de diferentes faixas etárias. Porém, atributos como a produção de leite de qualidade na propriedade devem ser mantidos durante o processo produtivo, para que se obtenha um produto final diferenciado que atenda as exigências e necessidades de todos os consumidores. Entre esses atributos de qualidade, destaca-se o controle de enfermidades que possam contaminar o leite. Nesse sentido, a mastite é considerada uma enfermidade que requer uma atenção especial nos sistemas de exploração pecuária, devido principalmente a baixa qualidade do leite produzido.

A mastite caprina é uma doença infecciosa causada por micro-organismos patogênicos que afetam a glândula mamária causando danos à saúde dos animais, decréscimo na produção e alterações na composição físico-química do leite, sendo sua manifestação predominantemente subclínica.

A doença pode ser classificada de acordo com o agente etiológico, em ambiental ou contagiosa. Segundo Fonseca & Santos (2000), a mastite ambiental é causada por micro-organismo existente no meio ambiente, como a *Escherichia coli*, enquanto que a mastite contagiosa é causada por patógenos que estão presentes, de preferência, no interior da

Trabalhos Apresentados

glândula mamária e na superfície da pele, sendo os principais agentes etiológicos os *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* (Marogna et al., 2010). A classificação da mastite pode ser dada também de acordo com grau de infecção, em clínica e subclínica. A clínica é caracterizada por apresentar sintomas visíveis no úbere do animal como edema, dor, rubor e aumento da temperatura e alterações no leite, como, presença de grumos, pus, sangue e alteração na cor (COSTA, 1998). Já a mastite subclínica, só é possível ser detectada por meio de testes laboratoriais, como por exemplo, o isolamento microbiológico. Vários estudos indicam que os estafilococos coagulase-negativos são as bactérias predominantes na mastite subclínica variando de 25% a 93% (Bergonier et al., 2003).

Diante do exposto o objetivo do presente estudo foi avaliar a composição, as características celulares das amostras de leite das fêmeas em lactação, bem como isolar os principais patógenos causadores da mastite caprina no rebanho estudado.

Material e Métodos

Foram selecionadas 20 cabras em lactação das raças Saanen e Anglo-nubiana. As amostras foram coletadas mensalmente nos meses de junho e julho de 2016, perfazendo um total de 142 amostras. A caracterização quanto ao estágio de lactação foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Guimarães et al. (1989). Executou-se o exame clínico por meio da palpação e inspeção das metades mamárias, onde foi possível observar se nos tetos do animal havia a presença ou ausência de nódulos. Caso fosse diagnosticado algum animal com mastite clínica, seria tratado, porém não participaria do estudo.

As cabras em lactação foram submetidas ao *California Mastitis Test* (CMT), no qual foram colhidos os primeiros jatos de leite em compartimento circular de uma bandeja plástica. Posteriormente realizou-se o escoamento de excesso de leite, e foi adicionada em cada compartimento igual quantidade do reagente CMT. Em seguida homogeneizaram-se as amostras por meio de movimentos circulares por 10 a 15 minutos, realizando-se após esse período a leitura (SHALM & NOORLANDER, 1957). Foram consideradas positivas as misturas que evidenciaram formação de gel viscoso, acompanhados ou não pela coloração violeta e negativas as amostras que permanecerem sem alterações visíveis.

Após a limpeza dos tetos com algodão embebido no álcool etílico 70% (v/v) foi colhido 60 mL de leite de cada teto em frascos contendo o conservante Bronopol® (2-bromo-2-nitropropano-1,3diol), para determinação da composição e Contagem de Células Somáticas (CCS). Em seguida as amostras foram homogeneizadas para garantir que o conservante dissolvesse completamente e depois os frascos identificados foram acondicionados em caixa própria e encaminhados em temperatura ambiente para a Clínica do leite – ESALQ/USP. O tempo decorrido entre a coleta e a análise das amostras foi inferior a 5 dias. A análise foi realizada por meio do aparelho *Combi 2500* (Bentley Instruments, Chaska, MN, EUA) (IDF, 2013; 2006).

Também foram colhidas amostras para a identificação dos principais patógenos causadores de mastite. As amostras de leite de cada metade mamária das fêmeas em lactação foram colhidas de acordos com os métodos recomendados pelo National Mastitis Council (OLIVER et al., 2004). A coleta foi realizada assepticamente em tubos falcon esterilizados, onde foram armazenados de 2 a 5 mL de leite. Em seguida foram acondicionados em caixa isotérmica contendo gelo e levados para o laboratório de Microbiologia da Embrapa Caprinos e Ovinos para posteriores análises de isolamento e identificação. Foram semeados 0,01 mL de leite de cada amostra com auxílio de uma alça bacteriológica, diretamente em placas de petri, contendo ágar-sangue, preparado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período foi realizada a primeira leitura, sendo incubando novamente por um período de 48 horas para realização de segunda leitura. A significância do número de colônias isoladas foi interpretada segundo os critérios propostos pelo National Mastitis Council (Laboratory..., 1987). Os micro-organismos foram identificados a partir de subcultivos em placas de ágar-soja tripticaseína, de acordo com as recomendações de Carter & Cole Junior (1990) e Quinn et al. (1994).

Resultados e discussão

Trabalhos Apresentados

Os resultados médios obtidos para a composição do leite foram 2,4% de gordura; 3,0% de proteína; 4,0% de lactose; 10,2% de sólidos totais e 7,8% de sólidos não gordurosos. Esses valores, quando comparados aos parâmetros de Identidade e Qualidade do leite de cabra, estavam abaixo dos limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 37 (BRASIL, 2000). A composição físico-química do leite, principalmente gordura e proteína, podem variar em decorrência de diversos fatores, tais como: idade do animal, estágio de lactação, nutrição, raça e condições climáticas em que o animal está inserido. Segundo Caroprese et al. (2015), a dieta pode influenciar no perfil de ácidos graxos do leite, produção e saúde da glândula mamária.

Os valores médios obtidos na determinação de CCS foram de 193.000 CS/mL. A quantidade de CCS células somáticas presente no leite tem sido utilizada como parâmetro indicativo de qualidade e saúde da glândula mamária. A Instrução Normativa nº 37 de 31/10/2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), específica sobre leite de cabra no Brasil, não estabelece limites para CCS (BRASIL, 2000). Porém, alguns autores utilizam valores de 1.000.000 CS/mL como ponto de corte para a definição de infecção intramamária (PAES et al., 2003). Das 142 amostras analisadas, 101 (71,1%) apresentaram contagens inferiores a 400.000 CS/mL valor, segundo Leitner et al. (2008), indicativo de ausência de infecção intramamária. Somente, 14 amostras (9,8%) apresentaram contagens superiores a 1.000.000 CS/mL. As demais amostras, 27 (19,1%) apresentaram contagens entre 400.000 e 1.000.000 CS/mL, sendo considerado, portanto, leite de alta qualidade, segundo classificação de Leitner et al. (2008). A mastite provoca alterações na secreção láctea e quanto mais grave, mais a composição do leite se aproxima da composição sanguínea, caracterizando-se por diminuição na lactose, gordura e caseína e aumento das proteínas do soro (Medeiros, 1994).

Das 142 amostras avaliadas durante o estudo verificou-se que em 23 (16,2%) amostras houve isolamento de micro-organismos, sendo confirmados bioquimicamente 19 (82,6%) cepas de estafilococos coagulase-negativos e 4 (17,4%) de estafilococos coagulase-positivos. Esse estudo assemelha a outros trabalhos científicos que afirmam que estafilococos coagulase-negativos (ECN) são os agentes patogênicos que mais causam a mastite subclínica em caprinos (ONNI et al., 2012). Em estudo realizado por Gomes et al. (2014), o principal agente etiológico associado à infecção intramamária em cabras leiteiras também pertenceram ao grupo de ECN, sendo isolado em 90,5% das amostras de leite analisadas.

Conclusão

A composição das amostras de leite analisadas apresentaram valores inferiores aos estabelecidos pela legislação vigente. Houve baixa ocorrência de animais com indicativo de mastite subclínica, sendo estafilococos coagulase-negativos os principais agentes etiológicos isolados. Os resultados obtidos no presente estudo reforçam a importância de sistematizar um programa de controle de mastite, com adoção de Boas Práticas Agropecuárias, tanto para a melhoria da qualidade higiênico sanitária do leite, bem como para a saúde da glândula mamária.

Referências Bibliográficas

- BERGONIER, D. ;DE CRÉMOUX, R.;RUPP, R.;LAGRIFFOUL, G.; BERTHELOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research**, v.34 ,n.5, p.689-716, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº37, de 31 de outubro de 2000. **Aprova o regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite de Cabra.** Disponível em:< <http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-37-de-31-10-2000,663.html>>. Acesso em: 11 jan. 2017.
- CAROPRESE, M; NAPOLITANO, F; MATTIELLO, S; FTHENAKIS, G.C.; RIBO, O; SEVI, A. 2015. On-farm welfare monitoring of small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.125, p. 101-105, 2015. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.02.013 <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.02.013>

Trabalhos Apresentados

- CARTER, G.R.; COLE JUNIOR, J.R. Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology. 5. ed. San Diego, **California: Academic Press**, p.201-209, 1990.
- COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 1, n. 1, p.03-09, 1998.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, p. 175, 2000.
- GOMES, V. et al. Etiologia e fatores de risco para a infecção mamária de cabras leiteiras em seis propriedades do Estado de São Paulo. **Semina Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p.2551-2561, 2014.
- GUIMARÃES, M. P.; CLEMENTE, W.T.; SANTOS, E.C.; RODRIGUES, R. Caracterização de alguns componentes celulares e físico-químicos do leite para diagnóstico de mastite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.41, n.2, p.129-142,1898.
- INTERNATION DAIRY FEDERATION. Milk – **Enumeration of somatic cells – part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-eletronic counters**. Brussels, Belgium, 2006, 15p. (IDF Standard, 148-2)
- INTERNATION DAIRY FEDERATION. **Milk and liquid products – Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry**. Brussels, Belgium, 2013, 14p. (IDF Standard, 141).
- LABORATORY and field handbook on bovine mastitis. Arlington: National Mastitis Council, 1987. 208p.
- LEITNER, G. et al. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. **Small Ruminant Research**, v. 74, n. 1-3, p.221-225, jan. 2008.
- Mac FADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: The Williams & Wilkins, 1976. 312 p.
- MAROGNA, G., ROLESU, S., LOLLAI, S., TOLA, S., & LEORI, G. Clinical findings in sheep farms affected by recurrent bacterial mastitis. **Small Ruminant Research**, v.88, n.2, p. 119 - 125, 2010
- MEDEIROS L.P. **Caprinos: princípios básicos para sua exploração**. Brasília: EMBRAPA, 1994.177p.
- OLIVER, S. P.; HOOGAN, J.S.; JAYARO, B. M.; OWENS, W.E. Microbiological Procedures for the Diagnostics of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality. 4 th. **Nacional Mastitis Council Inc.**, Verona, WI; 2004.
- ONNI, T.; VIDILI, A.; BANDINO, E.; MAROGNA, G.; SCHIANCHI, S.; TOLA, S. Identification of coagulase-negative staphylococci isolated from caprine milk samples by PCR-RFLP of groEL gene. **Small Ruminant Research**, v.104, n.1, p.185-190, 2012.
- QUINN, P.J.; M.E. CARTER; B. K. MARKEY; G. R. CARTER. Clinical veterinary microbiology. **Wolfe Publishing**. London, UK. 1994. 648p.
- SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D. D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **American Journal of veterinary Research**, Chicago, v.130, n.5, p.199-204, 1957.

Agradecimentos: CNPq

Autora a ser contatada: Daiane dos Santos, Aluna do Curso de graduação em Tecnologia em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, IFCE – Sobral–CE, Bolsista PIBIC/CNPq/EMBRAPA – e-mail: daianesp2013@gmail.com, Endereço: Estrada Sobral/Groaíras, Km 4, Caixa Postal 71, Sobral-CE, CEP: 62010-970.