

29º Congresso Nacional de Laticínios

Instituto de Laticínios Cândido Tostes

EPAMIG



CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E LIBERAÇÃO DE BACTÉRIAS DE QUARTOS MAMÁRIOS DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA

Somatic cell count and bacteria shedding by mammary quarters of the cows with subclinical mastitis

João Emídio F. LOPES JR.¹
Guilherme N. de SOUZA.²

1. Introdução

A mastite é a principal afecção do gado leiteiro, possui alta prevalência, e constitui um fator limitante em muitas propriedades rurais do país, devido às perdas econômicas. Na patogênese da mastite, bactérias invadem a glândula mamária, se multiplicam e causam uma reação inflamatória que envolve a liberação de numerosos mediadores da quimiotaxia de leucócitos do leito vascular para o leite (HARMON, 1994). O uso de indicadores da qualidade do leite, como a Contagem de Células Somáticas (CCS) e a Contagem Total Bacteriana (CTB), permitem avaliar o *status* da saúde das glândulas mamárias de rebanhos e as boas práticas agropecuárias durante a obtenção e conservação do leite nas fazendas (SOUZA et al., 2010). A quantidade de bactérias liberadas no leite também é influenciada pelos diferentes patógenos da mastite. Na Europa infecções intra mamárias (IIM) por *Streptococcus* spp. foram associados à repentinos picos de CTB, enquanto o *Staphylococcus aureus* a pequenas elevações na contagem bacteriana do leite de rebanhos (HAYES et al., 2001; ZADOKS et al., 2004). O objetivo principal deste trabalho foi quantificar o efeito dos principais patógenos da mastite subclínica (*S. aureus*, SCN, *S. agalactiae* e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*) na variação da CCS e na liberação de bactérias pelos quartos mamários (LBQM).

¹ Mestre em Ciência de Leite e Derivados, Supervisor de Segurança Alimentar da Secretaria de Agropecuária e Abastecimento, Prefeitura de Juiz de Fora, Rua Maria Perpétua, 72 / 4º andar, Ladeira, Juiz de Fora, MG, Brasil, CEP 36052-560, e-mail:joaoemidiovet@yahoo.com.br, * Autor para correspondência.

² Pesquisador II Centro Nacional de Pesquisa Em Gado de Leite, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rua Eugênio do Nascimento, 610, Dom Bosco, CEP 36038-330 - Juiz de Fora, MG - Brasil

2. Material e métodos

De junho a dezembro de 2009 foram colhidas três amostras pareadas de leite de 638 quartos mamários, em 124 vacas, para provas de identificação bacteriológica, Contagem de Células Somáticas e Contagem Bacteriana Total em cinco fazendas na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil. Imediatamente antes da coleta todos os quartos mamários foram examinados visualmente e pelo teste da caneca de fundo negro para exclusão das vacas com mastite clínica. Todos os tetos amostrados foram imersos em solução clorada (150 ppm) e foi feita a antissepsia da extremidade dos mesmos com álcool 70°GL (v/v). Após a colheita, as amostras foram imediatamente transportadas em caixas isotérmicas para os Laboratórios de Microbiologia e Qualidade do Leite, EMBRAPA Gado de Leite. Os testes bacteriológicos foram realizados de acordo com o *National Mastitis Council* (HARMON et al., 1990). A CCS e a CTB foram realizadas em equipamentos de citometria de fluxo, Bentley Somacount 300 e Bentley IBC (BENTLEY INSTRUMENTS INC., 2007), respectivamente, seguindo os procedimentos recomendados pelos fabricantes. Os resultados da CTB de quartos mamários foram utilizados para expressar a liberação de bactérias pelos quartos mamários, correspondendo à contribuição específica de cada patógeno isolado no aumento da CTB no leite dos quartos.

2.1. Estatística

Foi utilizado o sistema de computação estatística SPSS[®], versão 9.0, de acordo com Morgan et al. (2001). Foi necessária a transformação logarítmica (base 10) dos dados brutos de CCS ($\log_{10} \text{CCS}$) e CTB ($\log_{10} \text{CTB}$) para que apresentassem distribuição normal. De acordo com os patógenos identificados, foram realizadas análises da variância dos $\log_{10} \text{CCS}$ e $\log_{10} \text{CTB}$, comparação das médias ao nível de significância de 95% ($P < 0,05$), análise de regressão linear e a correlação de *Pearson*.

3. Resultados e discussão

Do total das 638 amostras de leite de quartos mamários, 421 (66,0%) foram negativas para crescimento bacteriano e das que apresentaram crescimento, 69 (10,8%) dos isolados eram *S. aureus*, 64 (10,0%) SCN, 45 (7,1%) *S. agalactiae* e 39 (6,1%) *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*. As

médias geométricas da CCS (células/mL) e CTB (UFC/mL), de acordo com os patógenos isolados foram: sem crescimento (52.000; 12.000), SCN (85.000; 17.000), *S. aureus* (587.000; 77.000), *Streptococcus* spp. que não o *S. agalactiae* (432.000; 108.000) e *S. agalactiae* (1.572.000; 333.000). Comparando as médias geométricas de CCS encontradas com os resultados de Djabri et al. (2002), considerando o intervalo de confiança de 95% para variação da CCS, observa-se alta concordância de resultados, tanto para quartos negativos quanto com isolamento de patógenos. Os resultados da CTB mostraram semelhança com os de CCS, a diferença ocorreu apenas entre *S. aureus* e *Streptococcus* spp. que não *S. agalactiae*, uma vez que a CTB do último foi maior que a do *S. aureus*. As médias geométricas da CTB encontrada nas amostras com patógenos variaram de 17.000 a 333.000 UFC/mL, se aproximando dos resultados encontrados por Keefe (1997) e Bramley; Mckinnon (1990) (100 a 10.000.000 UFC/mL). Os resultados da correlação indicaram que nas altas CCS espera-se também uma maior LBQM pelos patógenos da mastite, mostrando que a CCS também pode ser indicador da LBQM. Contudo, as correlações não foram suficientes para justificar os diferentes resultados de CCS para o mesmo patógeno. A regressão linear mostrou que os patógenos da mastite causam aumento da CCS com diferentes LBQM, onde o *S. agalactiae* e *Streptococcus* spp. que não o *S. agalactiae* causaram os maiores aumentos da liberação de bactérias pelos quartos mamários.

4. Conclusões

A magnitude da liberação de bactérias pelos quartos mamários variou de acordo com os patógenos da mastite, sendo a maior liberação observada para o *S. agalactiae*. A intensidade do processo inflamatório, medido por meio da CCS, foi associado à liberação de bactérias. São necessários mais estudos para o maior entendimento da contribuição dos diferentes patógenos da mastite na liberação de bactérias pela glândula mamária.

ABSTRACT

This study was conducted to establish the relationship between somatic cell count (SCC) and bacterial shedding from mammary quarters according to mastitis pathogens. Milk samples from 638 mammary quarters were examined for mastitis pathogens, SCC and total bacterial count (TBC). The raw data of SCC and TBC were used to perform descriptive statistics. The significance of the arithmetic

mean differences between SCC and TBC according to bacteriological examination results was determined. Pearson correlations were done and linear regression analyses. The geometric means of the bacteriological examination results were (cells/ml; CFU/mL): no growth (52,000; 12,000), coagulase-negative staphylococci (85,000; 17,000), *Staphylococcus aureus* (587,000; 77,000); other streptococci (432,000; 108,000) and *Streptococcus agalactiae* (1,572,000; 333,000). The Pearson correlations between SCC and TBC were higher than 0.60 for all mastitis pathogens. The regression analyses slopes showed different increase in TBC with the same increase in SCC according to mastitis pathogens. The slope for *S. agalactiae* (0.542) was higher than that for other mastitis pathogens. The results suggest that the intensity of inflammatory process was associated with number of mastitis pathogens shedding from the mammary gland.

Referências bibliográficas

- BRAMLEY, A.J.; McKINNON, C.H. The microbiology of raw milk.. In: **Dairy Microbiology the Microbiology of Milk**. 2nd ed. R.K. Robinson. ed. Elsevier Science Publishers. London. United Kingdom, v.1, 1990, p.163-208.
- DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. 2002 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 18 de abril de 2002. Instituir a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite, com objetivo de realizar análises laboratoriais para fiscalização de amostras de leite cru.
- DJABRI B. et al. Quarter milk SCC in infected dairy cows: a meta-analysis, **Veterinary Research**, v.33, n.4, p.335–357, 2002.
- HARMON, R.J. et al. Bacteriological procedures for diagnosis of bovine udder infection. Arlington: **National Mastitis Council**, 34p. 1990.
- HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.7, p.2103-2113, 1994.
- HAYES, M.C. et al. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.1, p.292-298, 2001.
- KEEFE, G. P.; DOHOO, I. R.; SPANGLER, E. Herd prevalence and incidence of *S. agalactiae* in the dairy industry of Prince Edward Island. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 3, p. 464-470, 1997.
- KEEFE, G.P. *S. agalactiae*: a review. **Canadian Veterinary Journal**, v.38, n.7, p.429-437, 1997.
- MORGAN, G.A.; GRIEGO, O.V.; GLOECKNER, G.W.; SPSS for Windows: **An introduction to use and interpretation in research**. Lawrence Erlbaum Associates, Inc., Publishers, Mahwah, NJ., 54p., 2001.
- SOUZA, G.N. et al. Presença de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* nos rebanhos bovinos e os limites de contagem de células somáticas

e contagem total de bactérias estabelecidos na IN51. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE; 2010. Florianópolis. **Anais...** CD ROM.

ZADOKS. R.N. et al. Mastitis-causing Streptococci are important contributors to bacterial counts in raw bulk tank milk. **Journal of Food Protection**, v.67, n.12, p.2644-2650, 2004.



ISSN 2176-0810

Anais do
29º Congresso Nacional de Laticínios
16 a 19 de Julho de 2012
Juiz de Fora - Minas Gerais



AGRICULTURA,
PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO

