

# CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E MICRORGANISMOS ISOLADOS NO LEITE DE BÚFALAS

Daniela Gomes da Silva<sup>1\*</sup>, André Marcos Santana<sup>2</sup>, Thainara Vitoria Carnevalli Sanches<sup>1</sup>,

Andréia Cristina Nakashima Vaz<sup>3</sup>, Ana Maria Centola Vidal<sup>3</sup> e José Jurandir Façliari<sup>1</sup>

1- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil. \*Autor de correspondência: danisoul-br@yahoo.com.br

2- Universidade Estadual de Maringá - UEM, Umuarama, PR, Brasil

3- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/USP, Pirassununga, SP, Brasil.

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar a contagem de células somáticas e avaliar a etiologia e a sensibilidade bacteriana dos agentes causadores de mastite em búfalas em lactação. Das 201 amostras de leite avaliadas, duas amostras (1%) foram positivas no teste da caneca de fundo escuro enquanto que 199 amostras (99%) foram negativas. Com relação ao isolamento bacteriano, 84 amostras (41,79%) apresentaram crescimento microbiológico e os microrganismos mais isolados foram: *Staphylococcus aureus* (21,43%), *Staphylococcus* sp. (17,87%), *Staphylococcus pseudintermedius* (10,71%), *Streptococcus dysgalactiae* (10,71%) e *Corynebacterium* sp. (8,33%). Foi observada alta porcentagem de resistência aos antibióticos testados e presença de cepas multirresistentes. A contagem de células somáticas foi maior nas amostras de leite com crescimento microbiano (87.345 células/mL) quando comparada com as amostras de leite sem crescimento microbiano (36.274 células/mL), porém sem diferença significativa ( $P>0,05$ ).

## SUMMARY

The aim of the study was to determine the somatic cell count and evaluate the etiology and bacterial sensitivity of the agents that cause mastitis in lactating buffaloes. Of the 201 milk samples evaluated, two samples (1%) were positive in strip cup test while 199 samples (99%) were negative. Regarding bacterial isolation, 84 samples (41.79%) showed microbiological growth and the most isolated microorganisms were: *Staphylococcus aureus* (21.43%), *Staphylococcus* sp. (17.86%), *Staphylococcus pseudintermedius* (10.71%), *Streptococcus*

*dysgalactiae* (10.71%), and *Corynebacterium* sp. (8.33%). A high percentage of resistance to tested antibiotics and presence of multidrug-resistant strains were observed. The somatic cell count was higher in milk samples with microbial growth (87,345 cells/mL) when compared with milk samples without microbial growth (36,274 cells/mL), but without significant difference ( $P>0.05$ ).

## INTRODUÇÃO

Segundo dados do IBGE (2020), a população bubalina brasileira, em 2019, foi de 1.434.141 animais, sendo o maior efetivo encontrado na região Norte do país (66,39%) seguida pela região Sudeste (13,86%), Nordeste (8,94%), Sul (6,98%) e Centro-Oeste (3,84%). O Estado de São Paulo responde pelo segundo maior rebanho do país, com 112.901 búfalos. Os bubalinos, assim como os bovinos, podem manifestar quadros de mastite clínica ou subclínica, que é considerada a principal doença que acomete os rebanhos leiteiros por causar a diminuição da produção láctea e mudanças nas características do leite (Purohit et al., 2014). A inflamação da glândula mamária resultante da introdução e multiplicação de microrganismos patogênicos conduz a uma série complexa de eventos que reduz a atividade sintética da glândula, provoca mudanças na composição do leite e eleva a contagem de células somáticas (CCS) (Alhussien e Dang, 2018). O objetivo do presente estudo foi determinar a contagem de células somáticas e avaliar a etiologia e a sensibilidade bacteriana dos agentes causadores de mastite em búfalas em lactação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 201 amostras de leite de fêmeas bubalinas da raça Jafarabadi em lactação pertencentes a uma propriedade rural localizada na região Nordeste do Estado de São Paulo. O trabalho de pesquisa foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº18957/15). Antes da colheita das amostras de leite foi realizado o exame físico da glândula mamária e o teste da caneca de fundo escuro para o diagnóstico da mastite clínica. Imediatamente antes da colheita das amostras de leite foi feita a antisepsia dos tetos com álcool 70%. Foram colhidas amostras de 20 mL de leite de cada quarto mamário, em frascos plásticos esterilizados e sem conservante, para a realização do isolamento microbiológico (Quinn et al., 2005) e amostras de 30 mL de leite de cada quarto mamário, em frascos plásticos esterilizados contendo bronopol como conservante, para a contagem de células somáticas pelo método de citometria de fluxo em contador automático (Somacount 300). Após a colheita, todas as amostras foram acondicionadas e transportadas em caixas isotérmicas com gelo até o laboratório. O perfil de susceptibilidade de todos os isolados bacterianos aos antimicrobianos foi realizado pelo método de difusão com discos em ágar Mueller-Hinton e os antimicrobianos testados foram: ampicilina (10 µg), cefoperazona (75 µg), ceftiofur (30 µg), enrofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), neomicina (30 µg), oxacilina (5 µg), penicilina (10 UI) e sulfametoxazol/trimetoprim (25 µg) (CLSI, 2020). A ocorrência de linhagens multirresistentes foi considerada quando houve resistência múltipla (simultânea) para três ou mais fármacos. Os resultados da CCS (células/mL) foram transformados em logaritmo na base 10 e submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida de comparação das médias pelo teste t de Student, ao nível de 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 201 amostras de leite avaliadas, duas amostras (1%) foram positivas no teste da caneca de fundo escuro (mastite clínica) enquanto que 199 amostras (99%) foram nega-

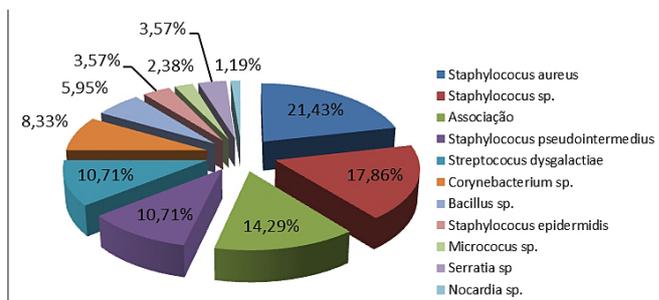


Figura 1. Percentual dos microrganismos isolados nas amostras de leite bubalino.

tivas. Com relação ao isolamento bacteriano, 84 amostras (41,79%) apresentaram crescimento microbiológico (mastite subclínica). Os microrganismos mais isolados foram: *Staphylococcus aureus* (21,43%), *Staphylococcus sp.* (17,87%), *Staphylococcus pseudointermedius* (10,71%), *Streptococcus dysgalactiae* (10,71%) e *Corynebacterium sp.* (8,33%). Também foram observadas associações de microrganismos em 14,63% dos isolamentos (Figura 1). Apesar das búfalas serem consideradas menos suscetíveis à mastite do que as vacas, devido a particularidades anatômicas, imunologia da glândula mamária e composição do leite, a infecção da glândula mamária envolve microrganismos semelhantes em ambas às espécies (Lau, 1994; Pizauro et al., 2014). Os resultados do antibiograma dos isolados bacterianos descritos na Figura 1 indicaram 98,46% de resistência à penicilina, 93,85% à oxacilina, 93,08% ao ceftiofur, 80,77% à ampicilina, 70,77% à neomicina, 64,62% ao sulfametoxazol/trimetoprim, 62,31% à gentamicina 61,24%, à enrofloxacina e à 60,00% à cefoperazona. Multirresistência foi observada em 93,85% dos isolados bacterianos descritos na Figura 1. A contagem de células somáticas foi maior nas amostras de leite com crescimento microbiano (87.345 células/mL) quando comparada com as amostras de leite sem crescimento microbiano (36.274 células/mL), porém sem diferença significativa ( $P>0,05$ ).

## CONCLUSÃO

Os microrganismos mais isolados nas amostras de leite das búfalas foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus pseudointermedius*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Corynebacterium sp.* Também foram observadas associações de microrganismos. Foi observada alta porcentagem de resistência

aos antibióticos testados e presença de cepas multirresistentes. A contagem média de células somáticas no leite das búfalas com crescimento microbiano foi aproximadamente 2,41 vezes maior do que a contagem no leite sem crescimento microbiano.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alhussien, MN; Dang, AK. 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Vet. World.* 11(5):562-577.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020, 332p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da Pecuária Municipal - PPM 2019. 2020. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>>. Acesso em: 15 out. 2020.

Lau, HD. Important economic diseases in buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., São Paulo, 1994. Anais... São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, 1994. p. 209-220.

Pizauro, L JL; Silva, DG; Santana, AM et al. 2014. Prevalence and etiology of buffalo mastitis and milk somatic cell count in dry and rainy seasons in a buffalo herd from Analândia, São Paulo State, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 66(6):1703-1710.

Purohit, GN; Gaur, M; Shekher, C. 2014. Mammary gland pathologies in the parturient buffalo. *Asian Pac. J. Reprod.* 3(4):322-336.

Quinn, PJ; Markey, B.; Carter, ME; Donnelly, WJ; Leonard, FC. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.* Artmed: Porto Alegre, 2005. 512 p.