

Foto: Viviane de Souza

COMUNICADO
TÉCNICO

192

Sobral, CE
Novembro, 2019

Embrapa

Uso da condutividade elétrica do leite para detecção de mastite subclínica caprina

Viviane de Souza
Adriano Rodrigues Lima
José Wellington Fontinele Moura
Fabiola Fonseca Angelo
Jefferson Filgueira Alcindo
Fernando Lucas Torres de Mesquita

Uso da condutividade elétrica do leite para detecção de mastite subclínica caprina¹

¹ Viviane de Souza, médica-veterinária, doutora em Medicina Veterinária, pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE.

Adriano Rodrigues Lima, bacharel em estatística, especialista em Matemática Financeira e Estatística, analista da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE

José Wellington Fontinele Moura, zootecnista, mestrando em Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, CE.

Fabiola Fonseca Ângelo, médica-veterinária, doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, professora da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

Jefferson Filgueira Alcindo, médico-veterinário, doutor em Ciência Animal, Professor da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

Fernando Lucas Torres de Mesquita, zootecnista, doutor em Biotecnologia, pesquisador do Instituto Agronômico de Pernambuco, Sertânia, PE.

Introdução

A mastite é a inflamação da glândula mamária, sendo causada, em grande parte, por micro-organismos, como bactérias e fungos. De acordo com a sua forma de manifestação, a mastite pode ser classificada em clínica e subclínica.

A mastite clínica é caracterizada por apresentar sintomas visíveis, como edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor na glândula mamária e/ou aparecimento de grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite.

Outra forma de manifestação da enfermidade é a mastite subclínica que se caracteriza por alterações na composição do leite, como aumento na contagem de Células Somáticas (CCS), aumento nos teores de íons cloreto e os íons sódio, e diminuição nos teores de caseína,

lactose e gordura do leite. Contudo, a magnitude dessas mudanças varia em função da severidade do quadro, da duração da infecção e do micro-organismo envolvido no processo, sendo detectada por meio de testes de diagnóstico capazes de evidenciar as alterações no leite devido à infecção subclínica (Bramley et al., 1998; Philpot; Nickerson, 2002).

A mastite clínica em pequenos ruminantes geralmente ocorre em menos de 5% do rebanho, e a mastite subclínica a incidência pode variar de 5% a 30% (Contreras et al., 2007). Estima-se que as perdas na produção de leite de cabras portadoras de mastite subclínica possam variar de 55 kg a 132 kg de leite/ano e que possa haver uma redução de 3 g de gordura/kg de leite por animal (Baudry et al., 1997).

A doença pode ser classificada de acordo com o agente etiológico em

ambiental ou contagiosa. A mastite ambiental é causada por micro-organismos existentes no meio ambiente, em locais que apresentam esterco, urina e barro. A bactéria *Escherichia coli* é um agente etiológico frequentemente isolado. A mastite contagiosa é causada por patógenos que estão presentes, de preferência no interior da glândula mamária e na superfície da pele dos tetos, sendo que o principal momento de transmissão ocorre durante a ordenha dos animais, e os principais agentes etiológicos isolados são os *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp.

Para o diagnóstico da mastite, é ideal a associação de avaliações que detectem a inflamação precocemente. Recomenda-se, portanto, a realização do exame clínico, além da avaliação macroscópica, celular e microbiológica do leite.

A avaliação microbiológica é considerada “padrão-ouro” por ser o melhor teste para o diagnóstico da mastite subclínica caprina, pois vários agentes etiológicos podem causar a doença e a presença de micro-organismos no leite é um indicativo de infecção intramamária (McDougall et al., 2001; Contreras et al., 2007).

Os principais agentes etiológicos causadores da mastite nos pequenos ruminantes são as bactérias dos gêneros: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* spp. e *Mannheimia haemolytica*. A mastite também pode ocorrer por algumas espécies de fungos, porém, é menos frequente (Bergonier et

al., 2003; Contreras et al., 2007; Peixoto et al., 2010; Santiago et al., 2010). Entre as espécies de *Estafilococos* coagulase-negativas as mais comumente isoladas em leite de cabra são: *S. epidermididis*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. hyicus*, *S. caprae*, *S. hominis* e *S. lugdunensis* (Contreras et al., 1997; Salaberry et al., 2016).

No entanto, o exame bacteriológico apresenta limitações devido à exigência para realização dos testes, demandando tempo e custos para a emissão dos resultados.

O uso de testes, em nível de campo, é fundamental para que o produtor, além de obter resultados rápidos, possa tomar decisões como medida de controle para evitar a disseminação e evolução da mastite no rebanho, assim como, garantir que o leite e derivados produzidos sejam alimentos seguros aos consumidores. As medições da Condutividade Elétrica (CE) no leite têm sido utilizadas como uma ferramenta para identificar animais que apresentam mastite subclínica e início de mastite clínica. Uma das vantagens do uso da CE é a possibilidade de acoplar o medidor na ordenhadeira mecânica, ou utilizar equipamentos portáteis, que oferecem resultados rápidos, permitindo a identificação precoce e o monitoramento diário de casos de mastite do rebanho, na própria propriedade.

A CE mede a capacidade de uma solução em conduzir uma corrente elétrica entre dois eletrodos, sendo mensurada em miliSiemens (mS). Os ânions (Cl) e cátions (Na⁺, e K⁺) são os mais relevantes para

determinação (Norberg, 2004). Esses íons são transportados pelas células da glândula mamária a partir do sangue em condições normais. Quando o animal apresenta mastite, ocorre aumento das concentrações de Na^+ e Cl^- no leite, o que tem como consequência o aumento da CE.

A CE do leite de cabras sadias (sem sintomas de mastite) varia de 4 mS a 5 mS, sendo que esses valores aumentam para 5,2 mS em casos subclínicos de mastite, ainda que possa ocorrer variação entre os animais e em função do tipo de agente causador de mastite. Nesse tipo de diagnóstico de mastite, pode-se atingir cerca de 70% de sensibilidade (identificação correta das cabras infectadas) e 50% de especificidade (identificação correta das cabras sadias) (Romero et al., 2012). Dessa forma, o uso da CE para detecção de mastite subclínica pode ser uma ferramenta para controle de mastite, pois permite a identificação precoce e um monitoramento diário de casos de mastite do rebanho.

Considerando a importância de diagnósticos rápidos para que os produtores rurais tomem decisões como medida de controle para evitar a disseminação e evolução da mastite nos rebanhos, o trabalho teve como objetivo avaliar a utilização do teste da condutividade elétrica como ferramenta para o diagnóstico da mastite em amostras de leite obtidas em diferentes rebanhos de caprinos leiteiros.

Metodologia

No período de outubro de 2015 de 2017 a novembro de 2018, foram realizadas coletas de amostras de leite, de um total de 97 animais pertencentes às propriedades selecionadas pelo projeto nas regiões de Sobral-CE, São Sebastião do Umbuzeiro-PB e Sertânia-PE. Foram realizadas, no mínimo, três visitas em cada propriedade. As características gerais das propriedades, número de animais, número de coletas e medidas higiênicas adotadas na obtenção do leite, estão apresentadas na Tabela 1.

As características macroscópicas de coloração do leite, consistência, assim como a presença de sangue, grumos ou pus foram avaliadas eliminando-se os três primeiros jatos na caneca telada, para detecção de mastite clínica. Os animais que foram diagnosticados com mastite clínica foram tratados e não fizeram parte do experimento.

Antes da coleta das amostras, todos os animais foram submetidos aos procedimentos básicos de boas práticas de higiene: antissepsia dos tetos antes da ordenha, utilizando-se uma solução antisséptica de iodo a 0,5%; secagem de cada teto com papel toalha absorvente e descartável; antissepsia dos tetos após a ordenha, utilizando-se uma solução antisséptica de iodo a 0,5% glicerinado.

Foram colhidas amostras de cada metade mamária das fêmeas (amostras individuais) de acordo com os procedimentos recomendados pelo National Mastitis

Council (Oliver et al., 2004), em tubos falcon esterilizados, contendo 2 mL a 5 mL de leite e em frascos de 60 mL, para identificação bacteriana e detecção da condutividade elétrica, respectivamente.

Após as coletas, as amostras foram identificadas e acondicionadas em uma caixa de material isotérmico, contendo gelo reciclável e enviadas ao Laboratório de Microbiologia da Embrapa Caprinos e Ovinos, para isolamento.

Tabela 1. Características gerais das propriedades rurais.

Características	Propriedades		
	A Ceará	B Paraíba	C Pernambuco
Localização	Sobral	São Sebastião do Umbuzeiro	Sertânia
Nº animais em lactação*	20	12	65
Nº coletas	6	3	3
Nº amostras coletadas	232	42	212
Nº animais com mastite clínica**	0	0	3
Realização de teste de mastite clínica***	Sim	Sim	Sim
Tipo de ordenha	Mecânica balde ao pé	Manual	Mecânica balde ao pé
Realização do Pré-dipping****	Sim	Não	Sim
Realização do Pós-dipping*****	Sim	Sim	Sim

*Nº animais em lactação: cabras leiteiras em produção; **Nº animais com mastite clínica: número de cabras com presença de grumos no leite no momento do teste da caneca de fundo escuro indicando mastite clínica; ***Realização do teste mastite clínica: uso pela propriedade do teste da caneca do fundo escuro como rotina na ordenha; ****Pré-dipping: antissepsia dos tetos por meio da imersão em solução de iodo a 0,5% antes da ordenha; *****Pós-dipping: imersão dos tetos em solução de iodo a 0,5% com glicerina, após a ordenha.

Detecção e Identificação microbiológica

Para determinar o estado de saúde da glândula mamária, considerou-se o exame microbiológico realizado nas amostras de leite obtidas das metades

mamárias das cabras em lactação. Sendo assim, foram analisadas 486 amostras de leite de cabra, obtidas nos rebanhos do Ceará, Paraíba e Pernambuco, acompanhados durante a execução do experimento (Tabela 1).

Para o exame microbiológico, semeou-se 0,01 mL das amostras de leite provenientes das metades mamárias,

diretamente em placas de petri, contendo meio de ágar-sangue preparado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro e em ágar MacConkey incubando-se a 37 °C. As leituras das placas foram realizadas às 24 h, 48 h e 72 h.

Colônias isoladas com suspeitas de serem *Staphylococcus* spp. ou *Streptococcus* spp. foram identificados a partir de subcultivos em placas de ágar soja-tripticaseína, de acordo com as recomendações de Cole Junior (1990) e Quinn et al. (2005) (Figura 1).

Quando houve crescimento de três ou mais colônias diferentes no isolamento primário, sem o predomínio de nenhuma delas, a amostra foi considerada contaminada.

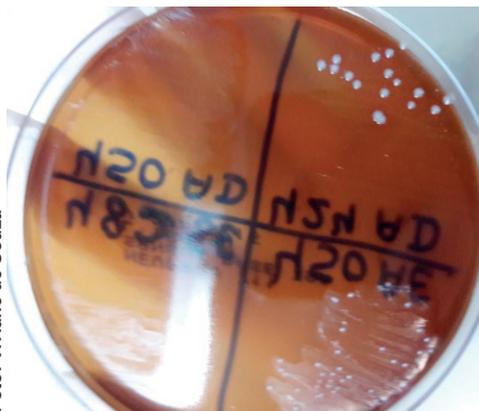


Foto: Viviane de Souza

Figura 1. Colônias sugestivas de *Staphylococcus* spp., em meio ágar-sangue.

Condutividade Elétrica

Para a realização do teste de CE, foram utilizados aproximadamente 60 mL de

leite de cabra das metades mamárias, totalizando 486 amostras obtidas nos rebanhos do Ceará, Paraíba e Pernambuco (Tabela 1). As amostras foram submetidas à leitura no analisador ultrassônico de leite Lactoscan SA (Entelbra) (Figura 2), sendo os resultados mensurados e expressos por miliSiemens (mS).



Foto: Viviane de Souza

Figura 2. Analisador de leite Ultrassônico-Lactoscan.

Análise estatística

O isolamento das cepas de *Staphylococcus* spp. no leite foi considerado como o teste padrão para determinação da acurácia do teste de condutividade elétrica, uma vez que a presença desses micro-organismos está associada à infecção intramamária caprina (Contreras et al., 2007).

Para a verificação da associação entre a Condutividade Elétrica e o teste de

isolamento microbiológico, foram comparadas as proporções (contagens) por meio do teste Qui-quadrado e, quando este não era válido, utilizou-se o teste Exato de Fisher, considerando-se um nível de significância de 5%. O software estatístico utilizado para as análises foi o SPSS 21.0 (Arbuckle, 2012).

A sensibilidade dos testes diagnósticos foi definida como a proporção dos verdadeiros positivos entre todos os doentes, a especificidade como a proporção dos verdadeiros negativos entre todos os sadios e a eficiência ou acurácia como a proporção de acertos do teste diagnóstico (Medronho; Perez, 2002).

Resultados

A prevalência de mastite subclínica causada por *Staphylococcus* spp. foi de 7,7%; 9,5% e 11,8% nas propriedades do Ceará, Paraíba e Pernambuco respectivamente.

Das amostras de leite avaliadas, foram isoladas e identificadas 18, 2 e 32 cepas de estafilococos coagulase-negativas (ECN), obtidas nas amostras de leite de cabra dos rebanhos do Ceará, Paraíba e Pernambuco respectivamente

A ocorrência de ECN é comum em casos de mastite subclínica. Os resultados obtidos nos exames microbiológicos do presente estudo corroboram com outros autores, que também encontraram maior frequência de ECN em casos de mastite subclínica. Em estudo,

Salaberry et al. (2016) observaram que do total de 214 amostras coletadas, 122 apresentaram multiplicação bacteriana, e dessas, 110 (90,2%) foram identificadas como *Staphylococcus* spp., sendo 90 (73,8%) ECN e 20 (16,4%) estafilococos coagulase-positiva (ECP), nove (7,4%) *Corynebacterium* spp. e três (2,5%) *Streptococcus* spp, reforçando a importância dos ECN em casos de mastite subclínica caprina.

No presente estudo, para a classificação das amostras indicativas de mastite subclínica, adotou-se como ponto de corte o valor médio da Condutividade elétrica de 5,20 mS/cm, conforme preconizado por Romero et al. (2012). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 2, 3, e 4 de acordo com cada rebanho avaliado.

Quando se utiliza um teste diagnóstico, é de fundamental importância saber a probabilidade que um animal com resultado positivo seja realmente infectado, bem como um animal com resultado negativo seja de fato, não infectado.

Os resultados de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia do teste de CE em relação ao isolamento bacteriológico, nos diferentes rebanhos, estão apresentados na Tabela 5.

A Condutividade Elétrica, por sua confiabilidade em determinar os animais verdadeiramente sadios (VPN), pode ser recomendada como prova de triagem para mastite subclínica e associado ao exame microbiológico “padrão-ouro” para confirmar o diagnóstico.

Tabela 2. Distribuição de *Staphylococcus* spp. em número absoluto e respectiva percentagem, encontradas no cultivo microbiológico de amostras de leite do rebanho do Ceará, de acordo com o teste de Condutividade Elétrica.

Resultado Microbiológico	Condutividade elétrica		Total
	Acima de 5,20 mS/cm	Abaixo de 5,20 mS/cm	
<i>Staphylococcus</i> spp.	18 (8,0%)	0 (0%)	18
Sem isolamento bacteriano	201 (92,0%)	13 (100%)	214
TOTAL	219	13	232

Tabela 3. Distribuição de *Staphylococcus* spp. em número absoluto e respectiva percentagem, encontradas no cultivo microbiológico de amostras de leite do rebanho da Paraíba, de acordo com o teste de Condutividade Elétrica.

Resultado Microbiológico	Condutividade elétrica		Total
	Acima de 5,20 mS/cm	Abaixo de 5,20 mS/cm	
<i>Staphylococcus</i> spp.	0 (0%)	4 (22,2%)	4
Sem isolamento bacteriano	24 (100,0%)	14 (77,8%)	38
TOTAL	24	18	42

Tabela 4. Distribuição de *Staphylococcus* spp. em número absoluto e respectiva percentagem, encontradas no cultivo microbiológico de amostras de leite do rebanho de Pernambuco, de acordo com o teste de Condutividade Elétrica

Resultado Microbiológico	Condutividade elétrica		Total
	Acima de 5,20 mS/cm	Abaixo de 5,20 mS/cm	
<i>Staphylococcus</i> spp.	25 (24,3%)	15 (13,7%)	40
Sem isolamento bacteriano	78 (75,7%)	94 (86,3%)	172
TOTAL	103	109	212

Tabela 5. Sensibilidade (SE), especificidade (ES), valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) e acurácia (AC) do teste de CE para o diagnóstico da mastite subclínica caprina.

Rebanhos	SE (%)	ES (%)	VPP (%)	VPN (%)	AC (%)
Ceará	100,0	6,0	8,2	100,0	13,3
Paraíba	0,0	36,8	0,0	67,0	33,3
Pernambuco	62,5	54,6	24,3	86,2	56,1

Conclusões

O teste da condutividade elétrica do leite pode ser utilizado para detectar rapidamente o estado de saúde da glândula mamária, por meio de uma medição simples e realizada na própria fazenda, como uma estratégia para a redução de mastite nos rebanhos caprinos.

Quanto aos aspectos éticos na experimentação animal, as atividades realizadas no presente documento foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Caprinos e Ovinos (CEUA/CNPC), em reunião realizada em 28/07/2015, Protocolo nº 007/2015.

Referências

ARBUCKLE, J. L. **IBM SPSS Amos 21.0**; user's guide. New York: IBM, 2012.

BAUDRY, C.; DE CREMOUX, R.; CHARTIER, C.; PERRIN, G. Impact of the cellular concentration of milk in goats on its production and its composition. **Veterinary Research**, v. 28, n. 3, p. 277-286, 1997.

BERGONIER, D.; DE CRÉMOUX, R.; RUPP, R.; LAGRIFOUL, G.; BERTHE LOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 689-716, Sep./Oct. 2003. DOI: 10.1051/vetres:2003030.

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 concepts of bovine mastitis**. 4th ed. Madison: National Mastitis Council, 1998. 64 p.

COLE JUNIOR, J. R. Micrococcus and *Staphylococcus*. In: CARTER, G. R.; COLE JUNIOR, J. R. (Ed.). **Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1990. p. 201-209.

CONTRERAS, A.; CORRALES, J. C.; SANCHES, A.; SIERRA, D. Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 11, p. 2815-2819, Nov. 1997. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(97)76245-3.

CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁCHEZ, A.; CORRALES, J. C.; MARCO, J. C.; PAAPE, M. J.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1/2, p. 145-153, Mar. 2007. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2006.09.011.

McDOUGALL, S.; MURDOUGH, P.; PANKEY, W.; DELANEY, C.; BARLOW, J.; SCRUTON, D. Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacterial status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, v. 40, n. 3, p. 245-254, Jun. 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(01\)00185-7](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(01)00185-7).

MEDRONHO, R. A.; PEREZ, M. A. Testes diagnósticos. In: MEDRONHO, R. A. (Ed.). **Epidemiologia**. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 259-270.

NORBERG, E.; HOGVEEN, H.; KORSGAARD, I. R.; FRIGGENS, N. C.; SLOTH, K. H. M. N.; LØVENDAHL, P. Electrical conductivity of milk: Ability to predict mastitis status. **Journal Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 1099-1107, Apr. 2004. DOI:

[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73256-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73256-7).

OLIVER, S. P.; GONZÁLEZ, R.N; HOGAN, J.S.; JAYARAO, B.M.; OWENS, W.E. **Microbiological Procedures for the diagnostics of Bovine udder infection and determination of milk quality**. 4th ed. Verona: The National Mastitis Council, 2004. 47 p.

PEIXOTO, R. de M.; MOTA, R. A.; COSTA, M. M. da. Mastite em pequenos ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 9, p. 754-762, set. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000900008>.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Campinas: Westfalia Landtechnik do Brasil: Milkbuzz, 2002. 188 p.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.

ROMERO, G.; PANTOJA, J. C. F.; SENDRA, E.; PERIS, C.; DÍAZ, J. R. Analysis of the electrical conductivity in milking fractions as a mean for detecting and characterizing mastitis in goats. **Small Ruminant Research**, v. 107, n. 2/3, p. 157-163, Oct. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.05.001>.

SALABERRY, S. R. S.; SAIDENBERG, A.B.S.; ZUNIGA, E.; GONSALES, F.F.; MELVILLE, P.A.; BENITES, N. R. Análise microbiológica e perfil de sensibilidade do *Staphylococcus* spp. em mastite subclínica de caprinos leiteiros. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 68, n. 2, p. 336-244, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8205>.

SANTIAGO, L. B.; BRITO, R. L. L. de; SANTOS, V. W. S. dos; RODRIGUES, A. de S.; ANDRIOLI, A.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. Etiologia e prevalência da mastite de origem bacteriana em animais livres e portadores de Artrite-encefalite caprina. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 223-226, 2010.

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Caprinos e Ovinos
Fazenda Três Lagoas, Estrada Sobral/
Groairas, Km 4 Caixa Postal: 71
CEP: 62010-970 - Sobral, CE
Fone: (88) 3112-7400
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
On-line (2019)

Embrapa

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações da Embrapa
Caprinos e Ovinos

Presidente
Cícero Cartaxo de Lucena

Secretário-Executivo
Alexandre César Silva Marinho

Membros
Alexandre Weick Uchoa Monteiro, Carlos José Mendes Vasconcelos, Fábio Mendonça Diniz, Maira Vergne Dias, Manoel Everardo Pereira Mendes, Marcos André Cordeiro Lopes, Tânia Maria Chaves Campêlo, Zenildo Ferreira Holanda Filho

Supervisão editorial
Alexandre César Silva Marinho

Revisão de texto
Carlos José Mendes Vasconcelos

Normalização bibliográfica
Tânia Maria Chaves Campêlo

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Francisco Felipe Nascimento Mendes

Foto da capa
Viviane de Souza