

CORRELAÇÃO ENTRE O “CALIFORNIA MASTITIS TEST” E O EXAME BACTERIOLÓGICO NO LEITE DE CABRAS

(CORRELATION BETWEEN CALIFORNIA MASTITIS TEST AND BACTERIOLOGICAL EXAMINATION OF GOAT MILK)

(CORRELACIÓN ENTRE EL “CALIFORNIA MASITITS TEST” Y EL EXAMEN BACTERIOLÓGICO EN LA LECHE DE CABRAS)

F. B. TONIN¹, A. NADER FILHO²

RESUMO

Um total de 195 amostras de leite foram submetidas ao teste de “California Mastitis Test” (CMT) e ao isolamento bacteriano com o intuito de avaliar a sensibilidade, a especificidade e a concordância entre os dois exames que são rotineiramente utilizados no diagnóstico da mastite subclínica”. Das amostras estudadas, 66 (33,8%) foram positivas ao isolamento bacteriano, das quais os *Staphylococci* coagulase negativa foram identificados em 61 (92,4%) e os *Staphylococci* coagulase positiva identificados nas 5 amostras restantes (7,6%). O teste de CMT apresentou melhor conjunto de sensibilidade (57,6%), especificidade (86,0%) e concordância (76,4%) quando o escore “traços foi considerado o padrão de triagem dos casos de mastite subclínica caprina.

PALAVRAS-CHAVE: Mastite caprina. California mastitis test. Exame bacteriológico.

SUMMARY

A total of 195 milk samples were submitted to CMT and bacteriological examination to evaluate the sensitivity, specificity and correlation between these two tests regularly used in the diagnosis of subclinical mastitis. Bacteriological results revealed a total of 66 (33.8%) positive samples, with a prevalence of 61 (92.4%) coagulase-negative *Staphylococci* and five (7.6%) coagulase-positive *Staphylococci*. California Mastitis Test had better results for sensitivity (57.6%), specificity (86.0%) and correlation (76.4%) when score “traces” were considered the threshold for subclinical mastitis trial in goats.

KEY-WORDS: Goat mastitis. California mastitis test. Bacteriological examination.

RESUMEN

Un total de 195 muestras de leche fueron sometidas a los testes de CMT y aislamiento bacteriano con el objetivo de evaluar la sensibilidad, la especificidad y la concordancia entre los dos testes, que son rutinariamente utilizados en el diagnóstico de la mastitis subclínica. De las muestras estudiadas 66 (33,8%) fueron positivas al aislamiento bacteriano, de las cuáles los *Staphylococci* coagulasa negativos fueron identificados en 61 (92,4%) y los *Staphylococci* coagulasa

¹ Pós-graduanda do Curso de Medicina Veterinária FCAV – Unesp – Campus de Jaboticabal. Rua Benjamim Constant, 4050 bl2, Vila Imperial, São José do Rio Preto/SP, 15015-600 E-mail.: fbtonin@uol.com.br

² Docente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV – Unesp – Campus de Jaboticabal.

positivos identificados em las 5 muestras restantes (7,6%). El teste de CMT presentó mejor conjunto de sensibilidade (57,6%), especificidade (86,0%) y concordancia (76,4%) cuando el marcador “traços” fue considerado el patrón de selección de los casos de mastitis subclínica caprina.

PALABRAS-CLAVE: Mastitis caprina. California mastitis test. Examen bacteriológico.

INTRODUÇÃO

Na espécie caprina, assim como na bovina, a presença de um agente infeccioso na glândula mamária determina um sensível aumento no conteúdo celular do leite (POUTREL & LERONDELE, 1983; DULIN et al., 1983; WILSON et al., 1995; ZENG & ESCOBAR, 1995; POUTREL et al., 1997) e é por esse motivo que a Contagem de Células Somáticas (CCS) é um dos métodos mais utilizados como método auxiliar no diagnóstico da mastite subclínica, não devendo, entretanto, ser usado isoladamente para indicar mastite (PARK & HUMPHREY, 1986)

Um método amplamente difundido como auxiliar no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos é o California Mastitis Test (CMT), desenvolvido por Schalm & Noorlander em 1957. Esse método mede indiretamente a concentração de leucócitos no leite. Entre suas vantagens citam-se a rapidez, fácil manejo e exatidão, podendo ser utilizado a campo ou no laboratório (DA SILVA et al., 1996). GUIMARÃES et al. (1989) propuseram os seguintes valores para interpretação dos resultados do CMT, em relação à CCS no leite de camrinos: escore negativo até $7,92 \times 10^5$ cél/ml; escore 1 $> 7,92 \times 10^5$ cél/ml a $1,36 \times 10^6$ cél/ml; escore 2 $> 1,36 \times 10^6$ cél/ml a $1,70 \times 10^6$ cél/ml e escore 3 acima de $1,70 \times 10^6$ cél/ml de leite. A exatidão do CMT é duvidosa na espécie caprina devido à presença de células epiteliais que, juntamente com os leucócitos, reagem ao teste causando uma interpretação diferente da usada para bovinos (BARCELLOS et al., 1987)

PERRIN et al. (1997) encontraram 87,6% de sensibilidade e 92,7% de especificidade para o CMT em caprinos, mas recomendam muita cautela na interpretação do teste em cabras de baixa produção de leite e no estágio final da lactação.

Os resultados de CMT escore 2 e 3 podem ser considerados como indicativos da infecção na espécie caprina, entretanto, para uma maior segurança, o teste bacteriológico dever ser utilizado (DA SILVA et al., 1996). Em estudo realizado por SANTOS et al. (1995), o CMT escore 2 apresentou melhor conjunto de sensibilidade (70,58%) e especificidade (75,0%) e, portanto, esse nível foi escolhida como melhor método de triagem para mastite subclínica em cabras.

O presente estudo procurou avaliar a concordância entre o teste do CMT e o isolamento bacteriano com o intuito de avaliar a capacidade do teste como método empregado na triagem dos casos de mastite subclínica na espécie caprina.

MATERIAL E METODOS

Propriedades rurais: as amostras foram colhidas em 3 rebanhos caprinos do Estado de São Paulo. Dessas propriedades, apenas uma realizava a ordenha manual, uma vez ao dia, enquanto que as demais realizavam ordenha mecânica, também, uma vez ao dia. Nas três propriedades eram obedecidas as boas práticas de higiene durante a ordenha, ou seja, a realização do teste da caneca telada de fundo preto a partir dos primeiros jatos de leite, a realização do *pré-dipping* com solução a base de iodo, a secagem dos tetos com papel toalha descartável e, logo após a ordenha, a realização do *pós-dipping* também com solução iodada. O número de animais em lactação variava de 28 a 60 e compreendia fêmeas das raças Saanen e Parda Alpina, sendo a produção média diária de 2 litros por animal.

Realização do CMT: após o descarte dos primeiros jatos de leite, o teste de CMT foi realizado de acordo com SCHALM & NOORLANDER (1957) em todas as fêmeas lactantes. Os resultados foram expressos mediante os escores: negativo, traços, 1, 2 e 3.

Colheita das amostras: as anistras de leite foram colhidas em tudos esterilizados individuais, após a realização do teste da caneca e do CMT, de acordo com os procedimentos recomendados pelo National Mastitis Council (1987).

Isolados bacterianos: após o cultivo de 18-24 horas em placas de ágar sangue a 5%, as colônias suspeitas foram isoladas e identificadas por meio de suas características morfológicas e tintoriais. Como descrito por KLOOS & LAMBE JR, a atividade da coagulase foi determinada a partir da utilização de mistura de plasma de coelho heparinizado e cultura de 18-24 horas do isolado, em quantidades definidas, em tudo de ensaio incubado a 37° C (banho maria ou bloco aquecedor) por 4 horas.

Análise dos resultados: o cálculo da sensibilidade e da especificidade relativas do teste de CMT com relação ao isolamento de patógenos foi realizado de acordo com a Tabela 1, segundo THIRY & PASTORET (1992).

Tabela 1 - Tabela de contingência utilizada para calcular a sensibilidade (Se) e especificidade (Es) relativas

Teste	Isolamento de patógenos		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	a	b	a + b
Negativo	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

a= verdadeiro positivo; b= falso positivo; c = falso negativo; d = verdadeiro negativo

$$Se = \frac{a}{a + c} \times 100$$

$$Es = \frac{d}{b + d} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 195 amostras estudadas, 66 (33,8%) foram positivas ao isolamento bacteriano, das quais os *Staphylococci* coagulase-negativos (SCN) foram identificados em 61 (92,4%) e os *Staphylococci* coagulase-positivos (SCP) identificados nas 5 amostras restantes (7,6%). Esses resultados estão de acordo com a literatura estrangeira, como observado por HUNTER (1994), que isolou 83,5% de SCN e 12,4% de SCP de casos de mastite subclínica caprina, e por MANSER (1986), que isolou SCN em 80% das amostras estudadas. Da mesma forma, no Brasil, diversos pesquisadores têm isolado SCN na maioria dos casos de mastite subclínica em cabras, variando de 34,3% até 89,3%, como relatado por LIMA JR et al. (1993) e DE CASTRO et al. (1992), respectivamente, em criatórios localizados no Rio de Janeiro. No Estado de São Paulo, RIBEIRO et al. (1999) isolaram SCN em 79,2% das amostras avaliadas.

A patogenicidade dos SCN ainda é tema de discussão para diversos pesquisadores, mas sabe-se que algumas espécies apresentam potencial patogênico para a glândula mamária como observado por POUTREL (1984), que isolou *Staphylococcus sciuri* sbsp *lentus* de casos de mastite clínica caprina. O fato de os SCN serem transmitidos durante e após a ordenha preocupa ainda mais os pesquisadores, uma vez que essa característica dificulta a prevenção e controle da infecção no rebanho (HARMON & LANGLOIS, 1989).

A interpretação dos resultados do teste de CMT em relação à espécie caprina é bastante contraditória, sendo ele considerado positivo quando o escore é e" 1 (GUIMARÃES, 1989) ou e" 2 (EAST et al., 1987). No presente estudo, o teste de CMT foi avaliado para verificar o melhor nível de triagem, sensibilidade, especificidade e concordância em relação ao isolamento bacteriano.

Tabela 1 - Sensibilidade (Se), Especificidade (Es) e Concordância (Co) do CMT em relação ao isolamento bacteriano em 195 amostras de leite caprino.

Escore CMT	Se %	Es %	Co %
Traços	57,6	86,0	76,4
≥ 1	48,5	81,4	70,3
≥ 2	37,9	75,9	63,1
≥ 3	27,3	70,5	55,9

Como pode ser observado na Tabela 1, o teste de CMT apresentou melhor conjunto de sensibilidade (57,6%), especificidade (86,0%) e concordância (76,4%) quando o escore "traços" foi considerado o padrão para triagem dos casos de mastite subclínica, diferentemente dos dados obtidos pelos pesquisadores citados anteriormente.

Para BARCELLOS et al. (1987), o maior percentual de concordância entre o CMT e isolamento bacteriano foi obtido considerando-se positivos os escores e" 1 (46,5%). Ainda, considerando esse mesmo escore, LIMA JR & VIANNI (1995) e DE CASTRO et al. (1992) obtiveram concordância de 61,3% e 66,2%, respectivamente, entre os resultados do CMT e o isolamento bacteriano. Mais recentemente, RIBEIRO et al. (1999) verificaram 47,4% de associação do CMT com o isolamento bacteriano.

Com base nos trabalhos publicados até o momento, pode-se dizer que o CMT é um método bastante eficiente no diagnóstico da mastite subclínica em cabras, desde que interpretado com cautela (VIHAN & SAHNI, 1987) SIDDIQUE et al., 1988). Vale lembrar que o resultado do CMT não deve ser utilizado isoladamente para diagnosticar casos de mastite, e sim deve ser associado ao cultivo bacteriológico a fim de que se tenha um diagnóstico definitivo (FOX et al., 1992).

Notar que a concordância obtida no presente estudo, considerando-se o escore "traços", superou as demonstradas por outros pesquisadores, denotando a importância de se considerar qualquer grau de reatividade ao CMT quando se pretende triar casos de mastite subclínica em cabras. Podemos sugerir, ainda, diante dos resultados obtidos, que o CMT seria mais eficiente em detectar glândulas mamárias negativas do que positivas para mastite, dada a alta especificidade do teste em relação ao isolamento bacteriano.

ARTIGO RECEBIDO: Setembro/2003
APROVADO: Julho/2004

REFERÊNCIAS

- BARCELLOS, T. F. S., SILVA, N., MARQUES JÚNIOR, A. P. Mastite caprina em rebanhos próximos à Belo Horizonte - Minas Gerais. I - Etiologia e sensibilidade a antibióticos. II - Métodos de diagnóstico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.39, n.2, p. 307-315, 1987.
- DA SILVA, E. R., ARAUJO, A. M., ALVES, F.S., PINHEIRO, R.R. Contagem de células somáticas e California Mastitis Test no diagnóstico da mastite caprina subclínica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 18, p. 78-83, 1996.
- DE CASTRO, M. V., LANGENEGGER, M. C. E. H., LANGENEGGER, J. Ocorrência e caracterização de estafilococos coagulase-negativos em leite de cabras no Estado do Rio de Janeiro. **Semina: Ciências Agrárias**, v.13, p. 15-17, 1992.
- DULIN, A.M., PAAPE, M.J., WERGIN, W.P. Effect of parity, Stage of lactation and intramammary infection on concentration of somatic cells and cytoplasmic particles in goat milk. **Journal of Dairy Science**, v.66, p.2426-2433, 1983.
- EAST, N. E., BIRNIE, E. F., FARVER, T. B. Risk factors associated with mastitis in dairy goats. **American Journal of Veterinary Research**, v.48, n.5, p. 776-779, 1987.
- FOX, L. K., HANCOCK, D. D., HORNER, S. D. Selective intramammary antibiotic therapy during the nonlactating period in goats. **Small Ruminant Research**, v.9, p. 313-318, 1992.
- GUIMARÃES, M. P., CLEMENTE, W. T., SANTOS, E. C. Caracterização de alguns componentes celulares e físico-químicos do leite para diagnóstico da mastite caprina. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 41, p. 129-142, 1989.
- HARMON, R. J., LANGLOIS, B. E. Mastitis due to coagulase-negative *Staphylococcus* species. **Agri-Practice**, v. 10, p. 29, 1989.
- HUNTER, A. C. Microflora and somatic cell content of goat milk. **Veterinary Record**, v.41, p.129-142, 1984.
- KLOSS, W., LAMBE JR, D. *Staphylococcus*. In: A. Balows, W. Hausler Jr, K. Herrmann, H. Isemberg, H. Shadomy (Ed.): **Manual of clinical microbiology**. 5. ed. Washington: American Society for Microbiology, D.C., 1991, p.222-37.
- LIMA JUNIOR, A.D., VIANNI, M. C. E. Correlação entre o California Mastitis Test, a contagem global de células somáticas e o exame bacteriológico do leite de cabras. **Revista Universidade Rural, Série Ciência da Vida**, v. 17, n.1, p. 7-13, 1995.
- LIMA JUNIOR, A. D., NADER FILHO, A., VIANNI, M. C. E. Sensibilidade "in vitro" dos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativos*, isolados em casos de mastite caprina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.45, p. 291-296, 1993.
- MANSER, P. A. Prevalence, causes and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. **Veterinary Record**, v.118, p. 552-554, 1986.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis. Arlington, 1987.
- PARK, Y. W., HUMPHREY, R. D. Bacterial cell counts in goat milk and their correlations with somatic cell counts, percent fat and protein. **Journal Dairy of Science**, v. 69, n.1, p.32-37, 1986.
- PERRIN, G. E., MALLEREAU, M. P., LENFANT, D., BAUDRY, D. Relationship between California Mastitis Test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. **Small Ruminant Research**, v. 26, p. 167-170, 1997.
- POUTREL, B. *Staphylococcus sciuri* subsp *lentus* associated with goat mastitis. **American Journal Veterinary Research**, v. 45, n. 10, p. 2084-2085, 1984.
- POUTREL, B., CREMOUX, R., DUCCELLIEZ, M., VECNEAU, D. Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell count. **Journal of Animal Science**, v.75, p.566-570, 1997.
- POUTREL, B., LERONDELLE, C. Cell content of goat milk: california mastitis test, coulter counter and fossomaztic for predicting half infection. **Journal of Dairy Science**, v.66, p.2575-25-79, 1983.
- RIBEIRO, M. G., MEGID, J., MEIRA, D. R. Mastite caprina. Estudo microbiológico, físico-químico e do diagnóstico através de provas indiretas. **Biológico**, v.61, n.1, p.27-33, 1999.
- SANTOS, L. F. L., CASTRO, R. S., COSTA, E. O. California Mastitis Test e whiteside modificado como critério de triagem para mastite caprina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.2, p.291-294, 1995.
- SCHALM, O. W., NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California

Mastitis Test. **Journal American of the Veterinary Medical Association**, v.130, p. 199-207, 1957.

SIDDIQUE, I. H., HAFEES, M., GBADAMOSI, S. G. Screening for subclinical mastitis in goats: testing the tests. **Veterinary Medicine**, p.87-88, 1988.

THIRY, E., PASTORET, P. P. L'évaluation des methods diagnostiques. **Annales de Medicine Veterinarie**, v. 136, p.269-272, 1992.

VIHAN, V. S., SAHNI, K. L. Observation on efficacy of various indirect diagnostic tests for detection of

subclinical mastitis in goats. **Iandian Veterinary Journal**, v.17, p.715-716, 1987.

WILSON, D. J., STEWART, K. N., SEARS, P. M. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.16, p.165-169, 1995.

ZENG, S. S., ESCOBAR, E. N. Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count ande composition of goat milk. **Small Ruminant Research**, v.17, p.269-274, 1995.