

BETA-GLUCANO SOLÚVEL INTRAMAMÁRIO NO CONTROLE DE MASTITES SUBCLÍNICAS

Vanderson dos Santos Silva¹, Ranulfo Piau Junior², Jessé Lahos Borges³, Gilberto Alves Ferreira⁴, André Felipe Berto de Almada⁵.

1. Acadêmico de Medicina Veterinária pela Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes n. 4282, Zona 3. Umuarama – Paraná - Brasil.
2. Docente do programa de pós-graduação em Ciência Animal com ênfase em produtos bioativos pela Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes n.4282, Zona 3. Umuarama. email: piau@prof.unipar.br
3. Médico Veterinário, Doutorando do Programa em Ciência Animal com ênfase em produtos bioativos da UNIPAR. Praça Mascarenhas de Moraes n. 4282, Zona 3. Umuarama – Paraná - Brasil.
4. Engenheiro agrônomo, Doutor em Agronomia, docente do Colégio Agrícola Estadual de Umuarama-Paraná-Brasil.
5. Doutorando em Ciência Animal com ênfase em produtos bioativos pela Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes n. 4282, Zona 3. Umuarama – Paraná - Brasil.

Recebido em: 22/09/2018 – Aprovado em: 23/11/2018 – Publicado em: 03/12/2018
DOI: 10.18677/EnciBio_2018B17

RESUMO

A mastite é uma das principais enfermidades relacionadas à bovinocultura leiteira, causando problemas na produção, alterando a composição e a qualidade do leite. Para diagnosticar a mastite subclínica utiliza-se de testes como a contagem de células somáticas (CCS) e o CMT (*california mastites test*). Os Glucanos são substâncias compostas de moléculas de glicose, que podem ter origem vegetal ou microbiana, contendo moléculas de 1,3 e 1,6 beta-glucano. O beta-glucano que é usado como um prébiótico e possui ação imunomoduladora. O objetivo do experimento foi avaliar a eficácia do beta-glucano solúvel, via intramamária, no controle de mastites subclínicas. Foram utilizados quatorze quartos mamários de vacas lactantes, com CMT (+++) reação fortemente positiva. Os animais foram divididos em dois grupos. No grupo controle foi feita a aplicação de 10mL de solução fisiológica estéril. O grupo tratado com 125mg de beta-glucano solúvel diluído em solução fisiológica estéril tendo-se no final 10 mL de volume. A administração do produto ocorreu durante sete dias após o período da ordenha da tarde. As coletas de leite foram feitas no dia zero e sete dias após o término do experimento, para análise de CCS, CMT e constituintes do leite (gordura, proteína, lactose e sólidos totais). Observou uma diferença significativa no CMT, os animais tratados com beta-glucano apresentaram um CMT menor que o grupo controle no término do experimento. Não se observou diferenças significativas nos valores de CCS e constituintes do leite. O beta-glucano intramamário foi eficaz no controle da mastite subclínica, diminuindo o escore de CMT no grupo tratado.

PALAVRAS-CHAVE: leite; prebióticos; vacas leiteiras

SOLUBLE BETA-GLUCAN IN INTRAMAMMARY APPLICATION IN THE CONTROL OF THE SUBCLINICAL MASTITIS

ABSTRACT

Mastitis is one of the main diseases related to dairy cattle, causing problems in production, altering the composition and quality of milk. To diagnose subclinical mastitis, tests such as somatic cell count (SCC) and CMT (california mastitis test) was used. Glucans are substances composed of glucose molecules, which may have vegetable or microbial origin, containing molecules of 1,3 and 1,6 beta glucan. Beta-glucan is used as a prebiotic and has immunomodulatory action. The objective of the experiment was to evaluate the efficacy of soluble beta-glucan in an intramammary application in the control of subclinical mastitis. Fourteen quarters of lactating cows were used, with CMT (+++) strongly positive reaction. The animals were divided into two groups. In the control group, 10 mL of sterile saline solution was applied. The other group was treated with 125 mg of soluble beta-glucan diluted in sterile physiological solution had 10 mL in volume. The administration of the product occurred for seven days consecutives, in the afternoon milking period. The milk samples were collected on day zero and seven days after the end of the experiment, for analysis of CCS, CMT and milk constituents (fat, protein, lactose and total solids). Observed a significant difference in CMT, animals treated with beta-glucan had a lower CMT than the control group at the end of the experiment. There were no significant differences in the values of CCS and milk constituents. The intramammary application of the beta-glucan was effective against the subclinical mastitis, decreasing the CMT score in the treated group.

KEYWORDS: Dairy cows; Milk; Prebiotics

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é um processo infeccioso e inflamatório da glândula mamária, acarretando modificações na composição do leite in natura com aumento da contagem de células somáticas (MORITZ; MORITZ, 2016). A contagem de células somáticas (CCS) determina a quantidade de leucócitos e células epiteliais presentes no leite (MARQUES et al., 2016). É utilizada para o monitoramento dos índices de mastite subclínica no rebanho. O alto índice de células somáticas no leite deve-se principalmente do aumento de leucócitos e constitui-se como o principal parâmetro utilizado para avaliar a sanidade do tecido mamário infeccionado (LAZZARI et al., 2014).

A mastite subclínica acarreta prejuízos econômicos significativos ao produtor, como diminuição da produção e da qualidade do leite, aumento dos custos com tratamento de animais doentes e descarte de animais e do leite dos animais tratados (COSTA et al., 2017). Para diagnosticar a mastite subclínica utiliza-se de testes como a contagem de células somáticas (CCS) (FONSECA; SANTOS, 2000).

Uma das ferramentas utilizadas para o diagnóstico da mastite subclínica é o *California Mastitis Test* (CMT) (FONSECA; SANTOS, 2000). Alternativas ao tratamento da mastite têm sido estudadas, já que existem dificuldades no tratamento devido à resistência bacteriana. Uma das alternativas ao controle da mastite seria o uso de prebióticos como os beta-glucanos.

Os beta-glucanos são polissacarídeos constituintes da parede celular de fungos e alguns cereais. Possui ação imunomoduladora com capacidade de melhorar a imunidade inespecífica e específica do animal (VOLMAN et al., 2008

JUNG CHROERS et al., 2016, DAL POZZO et al., 2016). Os beta-glucanos estimulam órgãos linfoides primários e secundários, potencializam a atividade de macrófagos e contribuem para a resistência a infecções (SALEH et al., 2015). O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia do beta-glucano solúvel, via intramamária, no controle de mastites subclínicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi autorizado pelo Comitê de ética em pesquisa envolvendo experimentação animal (CEPEEA) da Universidade Paranaense, sob o protocolo 34163/2017.

Animais do experimento

Foram utilizados quatorze quartos mamários do rebanho do Hospital Veterinário da Universidade Paranaense - UNIPAR, localizadas no município de Umuarama - PR. Os animais da raça Holandesa foram ordenhados mecanicamente duas vezes ao dia. Mantiveram-se em regime extensivo do início ao fim do experimento. Para a divisão dos grupos foi necessário utilizar o *California Mastitis Test* (CMT) e a contagem de células somáticas (CCS) a fim de manter um padrão dos tetos acometidos pela afecção. O experimento foi realizado em dois grupos de animais: controle, utilizando somente em solução fisiológica estéril, tratamento com 125mg de beta-glucano solúvel diluído em solução fisiológica estéril.

Confecção das seringas

Foram preparadas de maneira artesanal quarenta e nove seringas com solução fisiológica estéril e quarenta e nove seringas com 125mg de beta-glucano solúvel diluído em 10mL em solução fisiológica estéril. Em cada seringa foi adicionado 10 mL do composto, as seringas foram ré-embaladas em sua embalagem comercial, envoltas por um papel alumínio e suas pontas vedadas com um plástico selante e acondicionadas em refrigerador. Ao término de cada confecção, uma etiqueta era colocada nas seringas para sua devida identificação, com a data, numeração e o composto que estava portando.

California Mastitis Test (CMT)

O teste CMT foi aplicado antes e sete dias após o término do experimento. Os leites dos animais foram submetidos ao CMT, imediatamente após a preparação higiênica do úbere que antecede a ordenha. Os quartos mamários em que o leite apresentou positividade foram analisados e divididos baseados nos escores dos testes.

Contagem Células Somáticas

As amostras para CCS colhidas antes e sete dias após o término do experimento, foram acondicionadas em frascos de polietileno, com tampa de rosca e capacidade de 50 mL contendo duas pastilhas do conservante bronopol (2-bromo-2 nitropropano-1, 3-diol), etiquetadas e encaminhada para o Laboratório do Programa de Análise de Leite da Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) em Curitiba, Estado do Paraná, utilizando o aparelho Somacount 500 (Bentley Instruments®). Também foram encaminhadas amostras de leite para análise dos constituintes do leite.

Aplicação intramamária

O período de tratamento foi planejado baseando-se na terapêutica rotineiramente elegida para produtos comerciais indicados nos casos de mastite. Após a realização da ordenha da tarde, foram aplicadas por via intramamária em seringas, 10 mL do controle e 10 mL do tratamento com o beta-glucano solúvel. As aplicações dos produtos foram realizadas por sete dias consecutivos, aproximadamente no mesmo período da tarde.

Análise dos Resultados

Os dados foram analisados no programa Bioestat 5.3 utilizando-se ANOVA fatorial para os dados de CCS e composição do leite, sendo a análise realizada entre os grupos. Para os dados de CMT foi realizado o Teste Qui-quadrado. Foi utilizado nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao CCS, não se identificaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos (tabela 1). O CCS no grupo tratado teve uma redução de 61% e 25% no grupo controle no final do experimento. Não se identificaram diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$) para dados de gordura, proteína, lactose e sólidos totais presentes no leite (constituintes do leite).

TABELA 1. Valores médios de contagem de células somáticas $\times 10^3$ / mL de leite, percentagem de gordura, percentagem de proteína, percentagem de lactose e percentagem de sólidos totais de quartos mamários vacas leiteiras tratadas com beta-glucano e grupo controle nos dias D0 e D7.

Parâmetro	Tratamento		P^3
	Controle	-glucano	
CCS ¹	1068,71	1008,14	0,89
CCS ²	795,29	388,57	0,23
Gordura ¹	1,49	1,65	0,60
Gordura ²	0,93	1,29	0,24
Proteína ¹	3,24	3,27	0,88
Proteína ²	3,16	3,13	0,88
Lactose ¹	4,40	4,27	0,76
Lactose ²	4,34	4,18	0,79
Sólidos ¹	10,57	10,03	0,41
Sólidos ²	9,44	9,70	0,55

¹Avaliação inicial; ²Avaliação após sete dias. ³Não significativo pelo teste t ($p > 0,05$).

Existem trabalhos com a utilização do beta-glucano em bovinos, Graves e Ward (2010) fizeram a administração oral do beta-glucano, seu trabalho foi com bezerros de zero a oito semanas, sendo a avaliação da incidência em outros tipos de afecções. Almada et al. (2017a) e Almada et al. (2017b), não observaram influência dos beta-glucanos no desempenho, parâmetros sanguíneos e estresse de novilhas da raça nelores confinadas, administrados por via oral na ração. No presente trabalho não se observou diferença nos constituintes do leite, quando comparados os animais que receberam beta-glucanos e os animais do grupo controle.

Estrada et al. (1999) não obtiveram resultados positivos em animais saudáveis, ao utilizar o beta-glucano, o resultado foi apenas em animais com algum

tipo de imunossupressão por corticosteroides, a atividade imunomoduladora dos beta-glucanos auxilia no tratamento de animais imunossuprimidos. Waller et al. (2003) obtiveram resultados positivos com o uso do beta-glucano em preparação intramamária sendo resultados de imunomodulação, não de cura. Buddle et al. (1988) aplicando 125mg de beta-glucano por via subcutânea em vacas que foram inoculadas de forma intramamária com *Staphylococcus haemolyticus*, observaram uma diminuição da contagem células somáticas (CCS) e diminuição da contagem bacteriana total (CBT) do leite dos animais tratados com beta-glucano, quando comparados com o grupo controle.

Este resultado contrasta com outros estudos do uso de beta-glucanos em ruminantes, tais como os estudos de Estrada et al. (1999), Waller et al. (2003) e de Graves e Ward (2010). Os referidos estudos, entretanto, divergem do presente em *design* experimental. Apesar de demonstrarem a eficácia do 1,3 e 1,6 beta-glucano como imunomodulador em ruminantes, não utilizaram de forma intra mamária

Houve diferenças significativas (tabela 2) nas proporções entre o grupo controle e tratamento com beta-glucano para o teste de CMT após sete dias do término do tratamento ($p=0,0308$).

TABELA 2. Resultado do *California Mastitis Test* (CMT) referentes aos dias zero (D0), sete dias (D7) após o experimento nos animais tratados com beta-glucano intramamário e grupo controle. Apresenta-se o número de tetos com resultado positivo e negativo em cada grupo.

Grupo	Período	CMT	
		Negativo	Positivo
Controle	D0	0	07 ^a
	D7	2	05 ^a
Beta-glucano	D0	0	07 ^a
	D7	6	01 ^b

Letras diferentes significam diferença estatística entre os grupos considerando como positivo o CMT ++ e +++, Teste Qui-quadrado: $p<0,05$.

Foi observado que houve redução de 85% nos escores do CMT no grupo tratado com a solução de beta-glucano, enquanto que no grupo controle a redução foi apenas de 28%. Foi observada uma pequena diminuição do CMT do grupo controle, embora essa diminuição não seja significativa. Diferente do grupo tratado que ocorreu uma diluição significativa do CMT, quando comparados os grupos.

O teste de CMT possui grande relevância prática na pesquisa da mastite, uma vez que é o método usado com maior frequência para acompanhamento e avaliação de rebanhos leiteiros (DIAS, 2007). A literatura não possui grandes fontes quando é feita a correlação de imunomoduladores (beta-glucano) com o teste do CMT, porém Naresh et al. (2002) mostraram que através deste teste, é possível avaliar o uso de aditivos e seus efeitos. Ainda existe uma escassa literatura sobre o

uso de beta-glucano por via intramamária no controle da mastite em bovinos, sendo necessário novos estudos utilizando esses produtos bioativos.

CONCLUSÃO

O beta-glucano intramamário foi eficaz no controle da mastite subclínica, diminuindo o escore de CMT no grupo tratado.

REFERÊNCIAS

ALMADA, A. F. B. de; PIAU JÚNIOR, R.; FERNANDES, V.; BORGES, J. L.; SILVA, A. F. da; SIMÕES, J. V. M.; SILVA, V. dos S. Desempenho de novilhas da raça Nelore mediante o uso de betabluanas e probióticos. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 21, n. 3, p, 175-179, set./dez. 2017a. Disponível em: <<https://doi.org/10.25110/arqsaude.v4i1.2000.2329>>.

ALMADA, A. F. B.; POSSAMAI, M. C. F.; BORGES, J. L.; PAZIANOTI, J. R.; PIAU JUNIOR, R. Efeitos do uso de prebióticos e probióticos sobre os parâmetros sanguíneos e níveis de estresse de fêmeas nelore. **Enciclopédia Biosfera**, v.14 n.26; p.583-594, 2017b. doi: 10.18677/EnciBio_2017B30

BUDDLE, B.M.; PULFORD H.D.; M. RALSTON. Protective Effect of Glucan Against Experimentally Induced Staphylococcal Mastitis in Ewes. **Veterinary Microbiology**, v. 16, p, 67-76, 1988. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.08.023>.

COSTA, H. N.; MOLINA, L. R.; LAGE, C. F. A.; MALACCO, V. M. R.; FACURY FILHO E. J.; CARVALHO, A.U. Estimativa das perdas de produção leiteira em vacas mestiças Holandês x Zebu com mastite subclínica baseada em duas metodologias de análise. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.3, p.579-586, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9019>>.

DAL POZZO M.; VIEGAS J.; KOZLOSKI G. V.; STEFANELLO C. M.; SILVEIRA A. M.; BAYER C.; SANTURIO. J. M. Impacto dos adsorventes de micotoxinas eta-glucana ou montmorilonita sobre a fermentação ruminal de bovinos in vitro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.44, p.1-6, 2016. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/pdf/2890/289043697011.pdf>>

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnósticos e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasileira**, v.1, n.1, p.23-27, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.21708/avb.2018.12.2>>.

ESTRADA, A.; KESSEL, A.; LAAVELD, B. Effect of Administration of Oat -Glucan on Immune Parameters of Healthy and Immunosuppressed Beef Steers. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 63, p. 261-268, 1999. doi: 10.2174/1874091X01408010089.

FONSECA, L. F. L; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

GRAVES, J. M.; WARD, S. H. Performance of Holstein heifers supplemented with Coccidiostat, Mannanligosaccharide, or -glucan. **Animal and Dairy Sciences**, v.

7, n. 1, p. 53-61, 2010. Disponível em: <https://ads.msstate.edu/docs/annual_report/annualreport2010.pdf>

JUNG-SCHROERS, V.; ADAMEK, M.; HARRIS, S.; SYAKURI, H.; JUNG, A.; IRNAZAROW, I.; STEINHAGEN, D. Response of the intestinal mucosal barrier of carp (*Cyprinus carpio*) to a bacterial challenge by *Aeromonas hydrophila* intubation after feeding with α -1,3/1,6-glucan. **Journal of Fish Diseases**, P.1–16, 2018. doi: 10.1111/jfd.12799.

LAZZARI, A. M.; OLIVEIRA, M. V. S.; MORETI, B.; GUIMARÃES, G.; KRUG, F. et al. Produção de interleucina-1 beta e severidade da mastite pós-inoculação de *S. aureus* na glândula mamária de bovinos e bubalinos. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1816-1822, out. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20130726>>.

MARQUES, A. P. L., BOTTEON, R. C. C. M., MACHADO, C. H., MEDEIROS, B. P., ASSIS, J. D. et al. Contagem diferencial de células no leite de vacas com mastite subclínica com as colorações de May-Grünwald Giemsa e Gram*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n.38, (Supl.2), p.123-127, 2016. Disponível em: <<http://rbmv.org/index.php/BJVM>>.

MORITZ, F.; MORITZ, C. M. F. Resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus* spp. associados à mastite bovina. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 3, n. 2, p. 132-136, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v3i2.34435>>

NARESH, R.; DWIVEDI, S. K.; SWARUP, D.; PATRA, R. C. Evaluation of ascorbic acid treatment in clinical and subclinical mastitis of Indian dairy cows. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 15, n. 6, p. 905-911, 2002. doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.2002.905>.

SALEH, M. A.; AMORIM, A. B.; GRECCO, H. A.; BERTO, D. A.; PADOVANI, C. R.; ORSI, R. O.; TSE, M. L. Effects of α -1,3,6-d-glucan and density of diets on the blood profiles of immunologically challenged weaned piglets. **International Journal of Biological Macromolecules**, n.80, p.659–667, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.024>>

VOLMAN, J. J.; RAMAKERS, J. D.; PLAT, J. Dietary modulation of immune function by α -glucans. **Physiology & behavior**, v. 94, n. 2, p. 276-284, 2008. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.11.045.

WALLER, P. K.; GRÖNLUND, U.; JOHANNISSON, A. Intramammary Infusion of α -1,3 glucan for Prevention and Treatment of *Staphylococcus aureus* Mastitis. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, n. 3, p. 121-127, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12667189>>