

Comparação da técnica de contagem bacteriana, Teste Californiano de Mastites e contagem de células somáticas pelo método fluoro-opto-eletrónico em mastites subclínicas em cabras

Sequeira, A M¹; Coelho, A C¹; Valentim, R²; Alegria, N¹; Mendonça, Á²; Quintas, H^{2*}

¹Departamento das Ciências Veterinárias, CECAV, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal; ²Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária, 5300-253 Bragança, Portugal; ³ - Centro De Investigação de Montanha (CIMO) - Instituto Politécnico de Bragança, Portugal.

*Autor Correspondente: helder5tas@sapo.com



Introdução e objetivos

As particularidades fisiológicas dos caprinos: secreção essencialmente apócrina e a importância de fatores não infecciosos nas contagens de células somáticas (CCS), impedem a extrapolação direta dos resultados obtidos em ovinos e bovinos para o controlo de mastites subclínicas nesta espécie.

Com este estudo pretendeu-se avaliar, comparativamente, a utilidade da contagem bacteriana por cultura (PCA), do Teste Californiano de Mastites (TCM) e da contagem de células somáticas (CCS) no diagnóstico de mastites em caprinos. Adicionalmente, estimou-se a influência do número de partos na ocorrência de mastites subclínicas e na CCS. Avaliou-se, também, a variação da contagem destas células durante o período em que decorreu o estudo.

Materiais e métodos

Na realização deste estudo foram utilizadas 12 cabras Serras. Foram selecionados 3 grupos, com 4 animais cada um, segundo os critérios propostos por De Crémoux *et al.* (1994) que permitiu agrupar os animais segundo a sua concentração celular individual (CCI). As amostras de leite, correspondentes a uma metade mamária de um animal, foram obtidas de manhã, previamente à ordenha. Estas foram recolhidas semanalmente, durante 6 semanas consecutivas. Este período correspondeu ao 5^a e 6^a mês de lactação dos animais (n=144).

Nenhum dos animais apresentava sinais clínicos de mastite, nem qualquer outra alteração ao exame físico. As cabras criadas em regime semi-extensivo, eram sujeitas à ordenha mecânica, apenas uma vez por dia. A exploração com classificação sanitária de “indemne de brucelose” (B3) não possuía história de casos de agalaxia contagiosa nos últimos 10 anos. Todos os caprinos revelaram resultados negativos (ELISA) para o vírus da artrite-encefalite caprina.

Na recolha das amostras seguiu-se a metodologia descrita por Corrales *et al.* (1997). O TCM foi realizado segundo o método proposto por Schalm e colaboradores (1971). Foi utilizado um reagente comercial TCM[®] (Laboratório Serológico, Portugal), de acordo com as instruções do fabricante (Figura 1a).

As contagens bacterianas totais foram determinadas através da cultura da amostra de leite em *Plate Count Agar* (PCA, Biokar Diagnostics, Beauvais, França), segundo a norma ISO 4833:2003 (Figura 1b). As amostras com mais do que 500 UFC/mL foram classificadas como positivas (Corrales *et al.*, 1997).

Todas as amostras de leite recolhidas foram submetidas à CCS. Estas foram preservadas pela adição de broponol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), congeladas a -70°C e enviadas para o laboratório CENSYRA - Centro de Selección y Reproducción Animal de León, Espanha. Neste, foram processadas por citometria de fluxo, num contador automático de células FOSSOMATIC[®] Milscan 6000 a uma temperatura de 40°C (Figura 1c).



Figura 1- a) Execução do TCM; b) Cultura bacteriana; em PCA; c) Contador de células FOSSOMATIC[®] 6000.

Resultados e discussão

Neste estudo 25,7% das metades mamárias apresentaram cultura bacteriana com resultado positivo, o que se traduz na presença de uma presumível infeção intramamária. Este valor é semelhante à percentagem de 24% citado em Boscos *et al.* (1996), mas inferior ao intervalo de 35-71% apontado por Leitner *et al.* (2004). No entanto, não foi possível efetuar uma comparação direta entre os resultados, uma vez que existem diferenças entre os momentos em que se realiza a recolha da amostra face à ordenha e nos critérios de diagnóstico usados.

No presente estudo observou-se a existência de uma associação entre os resultados da cultura e os resultados do TCM (Tabela 1).

Tabela 1- Distribuição dos resultados positivos em cultura pelos resultados do TCM.

Resultados do TCM	% positividade*
0	12,8
Traço	29,5
1	18,2
2	50,0
3	27,3

* p=0,028

Em caprinos, a maioria dos estudos descrevem o resultado 2 do TCM como o limite a partir do qual se deve considerar uma glândula mamária como infetada (Souza *et al.*, 2012). Esta observação resulta das cabras sãs apresentarem CCS mais elevadas que os bovinos. Considerando este limite, obteve-se uma boa percentagem de especificidade (77,6%) e de valor preditivo de um resultado negativo de 79,8% e moderada sensibilidade 43,2% e valor preditivo de um resultado positivo de 40%.

A média aritmética da contagem de células somáticas das metades mamárias sem infeção foi superior às infetadas, 3472.000 e 1999.000 células/mL, respetivamente. Já o valor da média geométrica foi superior nas glândulas mamárias com resultado positivo na cultura bacteriana (1261.000 células/mL vs 920.000 células/mL), porém as diferenças encontradas não foram significativas (p<0,05%). Segundo Paape e Capuco (1997), mais de 90% das variações na CCS não estão relacionadas com infeções intramamárias bacterianas. Existem vários fatores, não infecciosos que podem conduzir a um incremento na concentração das células somáticas superior a 1 milhão de células/mL (Souza *et al.*, 2012).

As fêmeas multiparas apresentaram uma ocorrência de infeção intramamária (32%) superior às primíparas (13%). Por sua vez, animais com maior número de lactações revelaram contagens de CCS significativamente mais elevadas do que os mais jovens. Esta situação pode ser explicada por uma exposição mais longa dos animais mais velhos a agentes patogénicos, quando comparados com os mais novos.

A fase da lactação é um fator igualmente relevante na variação da concentração de células somáticas. Este facto encontra-se associado com o efeito da diluição, determinado pelo declínio natural da produção à medida que a lactação avança (Souza *et al.*, 2013). Todavia, durante o período em que decorreu o estudo, não possível verificar uma variação marcada na contagens de células somáticas (Figura 2).

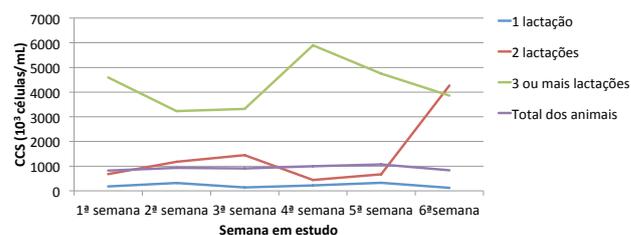


Figura 2- Variação das médias geométricas dos animais, sem infeção intramamária, durante o período em que decorreu o estudo.

Conclusões

TCM é uma prova de estábulo útil para definição do estatuto sanitário das metades mamárias em caprinos de raça serrana embora os seus resultados devam ser validados por cultura bacteriana. Os resultados indicam que ao se considerar a classificação de 2+ como limiar de positividade se garante uma elevada especificidade e valor preditivo negativo. Esta característica pode ser útil na definição de tratamentos de secagem seletivos dos animais.

Os resultados sugerem ainda que os fatores não infecciosos tem uma elevada importância nas CCS. O número de lactações é um fator determinante na elevação dessas contagens. No entanto, outros fatores (por exemplo, a fase de lactação) devem ser estudados de forma a compreender a sua importância nas elevações celulares nesta raça.

Estes dados devem ser validados com novos estudos abrangendo toda a lactação, maior número de animais, de rebanhos e sistemas produtivos.

Referências bibliográficas

- Baudry C, De Crémoux C, Chartier C, Perrin G. Incidence de la concentration cellulaire du lait de chèvre sur sa production et sa composition. *Vet. Res.* 1998; 28: 277–286.
- Boscos C, Stefanakis A, Alexopoulos C, Samartzis F. Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on Coulter Counter Counts and California Mastitis Test in the milk of Saanen and autochthonous Greek goats. *Small Rumin. Res.* 1996; 21: 139–147.
- Corrales J, Contreras A, Sanchez A, Luengo C, Marco J. Etiología y diagnóstico microbiológico de las mamitis caprinas. *Ovis* 1997; 53: 33–65.
- ISO 4833:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Colony-count technique at 30°C. Switzerland: ISO, 2003.
- Leitner G, Merin U, Silanikove N, Ezra E, Chaffer M, Gollop N, Winkler M, Glickman A, Saran A. Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts, NAGase activity and gross composition of goat's milk. *J. Dairy Res.* 2004b; 71: 311–315.
- Paape MJ, Capuco AV. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. *J. Anim. Sci.* 1997; 75: 556–565.
- Souza FN, Blagitz MG, Penna CF, Della Libera A, Heinemann MB, Cerqueira MM. Somatic cell count in small ruminants: Friend or foe? *Small Rumin. Res.* 2012; 107: 65–75.