



## CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E SUA RELAÇÃO COM O “CALIFORNIA MASTITIS TEST” DE CABRAS POSITIVAS E NEGATIVAS PARA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA A VÍRUS<sup>1</sup>

Vanderlan Warlington Souza dos Santos<sup>2</sup>, Roberta Lomonte Lemos de Brito<sup>3</sup>, Lauana Borges Santiago<sup>3</sup>, Daniela Carvalho dos Santos<sup>4</sup>, Alyne Sousa Leal<sup>4</sup>, Alice Andrioli<sup>5</sup>, Raymundo Rizaldo Pinheiro<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Estudo financiado pela Embrapa Caprinos, Banco do Nordeste do Brasil (BNB) e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP);

<sup>2</sup>Graduando em Zootecnia - Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA, Sobral-CE. Bolsista FUNCAP;

<sup>3</sup>Mestranda em Zootecnia - UVA/Embrapa Caprinos. Bolsista FUNCAP;

<sup>4</sup>Graduanda em Medicina Veterinária - Faculdade Pio Décimo, Aracaju-SE;

<sup>5</sup>Médica Veterinária e Pesquisadora - Embrapa Caprinos, Sobral-CE;

<sup>6</sup>Orientador e Pesquisador - Embrapa Caprinos; Professor do Curso de Graduação em Zootecnia - UVA. Estrada Sobral - Groairas, Zona Rural, Km 4, CEP: 62011-970, caixa postal 145, Sobral-CE. E-mail: rizaldo@cnpce.embrapa.br (autor para correspondência).

**Resumo:** Objetivou-se comparar a Contagem de Células Somáticas (CCS) do leite de cabras mestiças (½ Anglo-nubiano ½ Saanen) positivas e negativas para Artrite-Encefalite Caprina à Vírus (CAEV), com os resultados correspondentes do “California Mastitis Test” (CMT). Foram utilizados 44 animais em estágio de lactação entre 90 e 210 dias, pertencentes ao rebanho da Embrapa Caprinos. As amostras de leite foram coletadas a cada 28 dias, durante cinco meses. Após descarte dos primeiros jatos e higienização com álcool a 70%, amostras para a realização do CMT eram coletadas de cada teto e, em seguida, realizava-se a ordenha manual. O leite era pesado e retirava-se uma amostra para CCS em frasco plástico contendo Bronopol®. A CCS foi feita pelo método de citometria de fluxo em prazo máximo de quatro dias. Os valores médios da CCS das cabras positivas e negativas para CAEV foram agrupados em relação aos escores aritméticos do CMT correspondentes. Foi observada diferença ( $p < 0,05$ ) no teste do  $\chi^2$  entre as frequências encontradas, nos escores aritméticos 0 e 4 ( $\chi^2 = 5,36$ ); 2 e 4 ( $\chi^2 = 4,57$ ) e 3 e 4 do CMT ( $\chi^2 = 4,02$ ). Houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre as positivas e negativas nos escores 2+ e 3+, pelo teste “t” de Student. Nesses escores, os valores médios da CCS de cabras positivas para CAEV foram superiores aos das negativas, mostrando que o vírus influencia diretamente no aumento da contagem das células somáticas do leite, possivelmente por lesionar a glândula e predispor infecções secundárias.

**Palavras-chave:** cabra leiteira, diagnóstico, escore aritmético, mastite

### Somatic Cells Count and California Mastitis Test of crossbreed goats positive and negative for Caprine Arthritis-Encephalitis Virus

**Abstract:** The aim of this study was to compare the Somatic Cells Count (SCC) of crossbreed dairy goats (½ Anglo-nubiano ½ Saanen) positive and negative for Caprine Arthritis-Encephalitis Virus (CAEV), with the corresponding results of California Mastitis Test (CMT). 44 goats between 90 and 210 days lactating were used, belonged to National Goat Research Center, EMBRAPA. The milk samples were collected every 28 days, for five months. After discarded the first jets and cleaning with alcohol 70%, samples for CMT were collected of each teat. The milk was weighed and collected a sample for SCC in a plastic flask containing Bronopol®. For SCC, it was utilized the method of flow cytometry in a maximum period of four days. The medium values of SCC of the positive and negative goats for CAEV were grouped based on the arithmetic corresponded scores of CMT. Statistical difference ( $p < 0.05$ ) was observed in the test of  $\chi^2$ , in the arithmetic scores 0 and 4 ( $\chi^2 = 5.36$ ); 2 and 4 ( $\chi^2 = 4.57$ ) and 3 and 4 of CMT ( $\chi^2 = 4.02$ ). There was statistical difference ( $p < 0.05$ ) between positive and negative goats in the scores 2+ and 3+, for the Student “t” test. In those scores, the medium values of SCC of positive goats for CAEV were higher than negative goats, showing that CAEV has direct influence on the increase of milk somatic cells count, probably for injuring the gland and predispose secondary infections.

**Keywords:** arithmetic score, dairy goats, diagnosis, mastitis

### Introdução

A exploração de caprinos voltada para a produção de leite e derivados apresenta acentuado crescimento no país devido à crescente demanda e à melhor remuneração obtida com os produtos lácteos. Porém, para que essa exploração tenha sucesso, faz-se necessário um manejo adequado, principalmente tentando minimizar problemas inflamatórios/infecciosos ligados à glândula mamária, ou seja, a mastite, que leva a perdas econômicas. A mastite é ocasionada, na maioria das vezes, por microrganismos como

*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus aureus*, *Mycoplasma* sp., agentes ambientais como os coliformes, vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAEV), entre outros. A diminuição na produção e qualidade do leite devido a mastites clínicas e subclínicas, as repercussões sobre os animais adultos e lactantes e ainda, na saúde do consumidor são aspectos relacionados a perdas econômicas que justificam a grande necessidade de se estudar e desenvolver estratégias de controle para a mastite (Mota, 2008). Desta forma, a realização de testes diagnósticos que identifiquem precocemente a mastite, serve como uma ferramenta importante no seu controle. Em caprinos, os testes mais utilizados são a contagem de células somáticas (CCS) e o “California Mastitis Test” (CMT). Devido à sua fácil execução e interpretação, o CMT tem sido o foco de muitos estudos (Silva et al., 2001) nos quais se tem como objetivo principal a determinação estimada da contagem de células somáticas no leite de cabras bem como a identificação da mastite subclínica (Escobar, 2008). O presente estudo teve como objetivo comparar a Contagem de Células Somáticas do leite de cabras mestiças (½ Anglo-nubiano ½ Saanen) positivas e negativas para Artrite-Encefalite Caprina à Vírus, com os resultados correspondentes do “California Mastitis Test”.

### Material e Métodos

O estudo foi realizado na fazenda Santa Rita, unidade experimental da Embrapa Caprinos, situada no município de Sobral, região Norte do Estado do Ceará. O experimento foi conduzido no período de 04 de abril a 30 de agosto de 2008, totalizando cinco coletas de amostras de leite, que ocorreram a cada 28 dias. Foram utilizadas 44 cabras leiteiras mestiças (½ Anglo-nubiano ½ Saanen), sendo 19 positivas e 25 negativas para o Vírus da Artrite-Encefalite Caprina (CAEV) e com estágio de lactação entre 90 e 210 dias e a ordenha era realizada somente no período da tarde. Ao final, obtiveram-se 178 e 214 amostras de leite dos grupos positivo e negativo, respectivamente. As cabras eram separadas conforme a sorologia para o CAEV e mantidas em piquetes distintos com pastagem irrigada de capim Tanzânia. Recebiam concentrado composto por 61% de milho, 37,6% de farelo de soja, 0,7% de fosfato bicálcico e 0,7% calcário calcítico (percentual na matéria natural) e tinham acesso *ad libitum* à água e à suplementação mineral. As cabras tinham idade entre 14 e 38 meses, escore corporal entre 1,75 e 2,5 e eram submetidas ao teste de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) e ao Western blot (WB) a cada dois meses, para confirmação da sorologia dos grupos positivo e negativo quanto ao CAEV ao longo de todo o experimento. Segundo Escobar (2008), o CMT deve ser realizado antes da ordenha, logo após o descarte dos primeiros jatos de leite, é um teste que utiliza um detergente que ao reagir com o material genético das células somáticas forma um gel que tem sua consistência graduada em escores aritméticos de 0, 1, 2, 3 e 4, para as reações negativo, traços, 1+, 2+ e 3+, respectivamente. A ordenha era manual utilizando-se pré-dipping com álcool 70% (Kirk, 2008), ao término da ordenha era realizado o pós-dipping com solução de iodo com glicerina a 0,3%. O leite era pesado e em seguida eram coletadas as amostras de leite para a contagem de células somáticas (CCS) em frasco plástico com conservante Bronopol<sup>®</sup>, devidamente identificados e tampados. Estes eram encaminhados em isopor contendo gelo reciclável para o Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite, onde era realizada a determinação da CCS pelo método de citometria de fluxo, utilizando o equipamento Somacount 300 da marca Bentley<sup>®</sup>, em um prazo máximo de quatro dias. As médias foram interpretadas por análise de variância, com nível de 5% de significância (Snedcor & Cochran, 1980) e as frequências obtidas foram comparadas através do teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ), utilizando-se o programa estatístico EPI INFO versão 6.0.

### Resultados e Discussão

Os valores médios das CCS das cabras positivas e negativas para CAEV foram agrupados em relação aos escores aritméticos do CMT que os correspondiam (Figura 1). Foram observadas as seguintes frequências para as cabras positivas e negativas para CAEV, respectivamente: 5,62% (10/178) e 10,75% (23/214) no escore aritmético 0; 8,99% (16/178) e 11,21% (24/214) no escore aritmético 1; 11,24% (20/178) e 16,36% (35/214) no escore aritmético 2; 21,35% (38/178) e 26,17% (56/214) no escore aritmético 3 e 51,12% (91/178) e 35,98% (77/214) no escore aritmético 4 do CMT. Foi observada diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) no teste do  $\chi^2$  entre as frequências encontradas, nos escores aritméticos 0 e 4 ( $\chi^2=5,36$ ); 2 e 4 ( $\chi^2=4,57$ ) e 3 e 4 do CMT ( $\chi^2=4,02$ ). Os valores médios das CCS correspondentes aos escores aritméticos 0 e 2 do CMT para as positivas e negativas para CAEV e os valores médios das CCS correspondentes ao CMT escore 1 das negativas para CAEV, foram superiores aos encontrados por Silva et al., (2001). Porém os valores médios das CCS correspondentes aos escores 3 e 4 encontrados neste estudo foram inferiores aos encontrados por esses mesmos autores, fato este também observado com os valores obtidos por Escobar (2008). Os valores encontrados por Mendonça et al. (2008) em um estudo com cabras da raça Serrana em Portugal, comparando a CCS com o CMT, foram superiores aos encontrados neste estudo. Isto pode ser explicado pela diferença de raças estudadas e diferença nas condições climáticas dos dois países. Houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre as positivas e negativas nos escores aritméticos 3 e 4 do CMT, que correspondem os escores 2+ e

3+, pelo teste “t” de Student. Mesmo ocorrendo um aumento fisiológico na eliminação das células somáticas no final da lactação (Mendonça et al., 2008), foi possível observar que os valores médios da CCS de cabras positivas para CAEV foram superiores aos das negativas nos escores 2+ e 3+, mostrando provável influência viral diretamente no aumento da contagem das células somáticas do leite. Provavelmente, além de afetar a glândula mamária através de uma mastite intersticial, que por si só leva a um aumento da CCS, predispõe a glândula mamária a infecções secundárias.

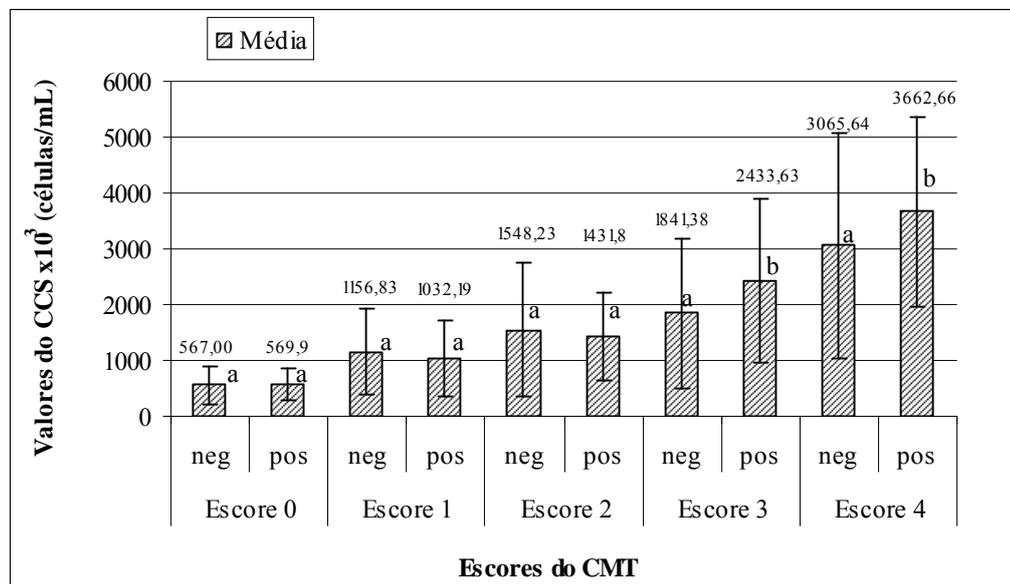


Figura 1. Valores médios das Contagem de Células Somáticas (CCS) obtidos de cabras positivas e negativas para Atrite-Encefalite Caprina a Vírus (CAEV), em estágio de lactação entre 90 e 210 dias, agrupados nos escores aritméticos 0, 1, 2, 3 e 4 do “California Mastitis Test” (CMT), que representam reação negativa, traço, 1+, 2+ e 3+ respectivamente. Letras minúsculas distintas dentro de cada escore aritmético do CMT diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste “t” de Student.

#### Conclusões

Conclui-se que as cabras positivas apresentam valores médios de CCS superiores aos das negativas nos escores 2+ e 3+ do CMT, mostrando que o vírus influencia diretamente no aumento dessas células.

#### Agradecimentos

À Embrapa Caprinos por ter cedido gentilmente as instalações e os animais para realização do estudo, além do auxílio financeiro. Ao BNB e à FUNCAP pelo auxílio financeiro e à Embrapa Gado de Leite, pela realização das análises de contagem de células somáticas.

#### Literatura citada

- ESCOBAR, E. N. **Somatic cells in goat milk**. Disponível em: <<http://www2.luresext.edu/GOATS/library/field/escobar99a.pdf>>. Acesso em: 19 set. 2008.
- KIRK, J. H. **Sterile Milk Sampling**. Disponível em: <[http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetext/INF-DA/INF-DA\\_SAMPLING.HLTM](http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetext/INF-DA/INF-DA_SAMPLING.HLTM)>. Acesso em: 16 jan. 2008.
- MENDONÇA, A., VALENTIN, R., MAURÍCIO, R. CORREIA, T., COUTO, A., PEREIRA, P., MARTINS, P. **Perfil de células somáticas em leite de cabras da raça Serrana**. Disponível em: <<http://www.ancras.pt/pdf/2-3%20Alvaro%20Mendonca.pdf>>. Acesso em: 19 set. 2008.
- MOTA, R. A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 2, p. 57-61, 2008.
- SILVA, E. R.; ARAÚJO, A. M.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; SAUKAS, T.N. Associação entre o California Mastiti Teste e a Contagem de Células Somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. **Brazilian Journal Veterinarian Research Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 46-48, 2001.
- SNEDCOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical Methods**. 7th ed., Iowa : The Iowa State Univ. Press, 1980.