

RELAÇÃO ENTRE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) E OS RESULTADOS DO “CALIFORNIA MASTITIS TEST” (CMT), NO DIAGNÓSTICO DE MASTITE BOVINA

THE RELATION BETWEEN SOMATIC CELL COUNT (SCC) AND RESULTS OF THE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT) TO DIAGNOSE BOVINE MASTITIS

Cristiano Pereira BARBOSA*

Edmundo BENEDETTI**

Sueli Cristina de Almeida RIBEIRO***

Ednaldo Carvalho GUIMARÃES****

RESUMO: O presente trabalho teve o propósito de verificar a existência de relação entre as variações da contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test” (CMT) do leite de vacas mestiças leiteiras, com estágio de lactação entre 80 e 200 dias, e de rebanhos de ordenha manual e mecânica. O CMT foi realizado, no momento da ordenha da manhã, quando também se coletou o leite que foi, posteriormente, preparado em esfregaços, em lâminas e corados para a CCS, em microscopia de luz. Ficou evidente que a mastite é o principal fator de elevação da CCS do leite. Os resultados mostraram que os testes de CCS e CMT são altamente dependentes e com alta correlação, o que foi comprovado pelas análises estatísticas, através do teste do qui-quadrado (χ^2) e pelo coeficiente de correlação (r).

UNITERMOS: Células somáticas, “California Mastitis Test”, Mastite bovina.

* Médico Veterinário. Pós-graduando do curso de Ciências Veterinárias - Clínica e Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia

** Professor Titular. Doutor. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia

*** Professora Titular. Mestre. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia

**** Engenheiro Agrícola. Professor Adjunto. Doutor. Faculdade de Matemática da Universidade Federal de Uberlândia

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma doença cosmopolita, de grande importância econômica, causada por grande número de microrganismos, principalmente bactérias e que afeta as fêmeas de forma clínica ou subclínica. Em rebanhos leiteiros, a mastite subclínica provoca grande impacto na produtividade, pois sua prevalência é maior que a da forma clínica, e assim, as medidas para o seu controle têm recebido grande atenção (PHILPOT; NICKERSON, 1991).

A contagem de células somáticas (CCS) tem o propósito de fazer uma avaliação indireta da saúde da glândula mamária, de fêmeas em lactação, utilizando-se como referência, o aumento na concentração de células de defesa no leite, constituindo-se uma estimativa precisa do nível de infecção do úbere (LARANJA; AMARO, 1998).

O teste de CCS vem sendo realizado há mais de 40 anos, na pecuária leiteira e além de ser indicado na avaliação da saúde da glândula mamária, como auxiliar no diagnóstico de mastite, também é utilizado como parâmetro de avaliação da qualidade do leite (LARANJA; AMARO, 1998). Está, diretamente, ligado à perdas econômicas causadas por mastite, mudanças nas propriedades físicas, químicas e organolépticas do leite, propriedade de coagulação (importante na indústria de produtos lácteos), valores

de pH, higiene do produto e também, presença de antibióticos no leite (ANTUNAC et al., 1997).

Segundo Philipsson et al. (1995), a baixa contagem de células somáticas no leite, pode ser usada, também, como critério de seleção para reprodução, visando melhorar a resistência dos animais à mastite clínica. Esta resistência, observada por seleção de CCS, tem alta herdabilidade.

De acordo com Laranja; Amaro (1998), o aumento proporcional na contagem de células somáticas, ocorre quando o volume do leite é reduzido, o que pode estar associado à redução drástica de alimento, ou de água, além da própria infecção da glândula mamária. O número de células somáticas no leite sofre influência, também, do estágio de lactação (BARKEMA et al., 1999). Segundo Beaudeau et al. (1998) e Barnouin et al. (1999), a ocorrência de mastite clínica faz com que os quartos da glândula mamária infectados resultem em CCS altíssimas, ultrapassando mais de 1.000.000 de células/ml de leite.

Reneau (1986) e Harmon (1994), afirmam que o principal fator que influencia no aumento das células somáticas do leite é a mastite e, apesar de outros fatores como, período de lactação, idade do animal, estação do ano e outros tipos de estresse poderem influenciar na CCS, eles não possuem tanta importância como a infecção da glândula mamária.

O “California Mastitis Test” (CMT), quando utilizado em conjunto com a CCS, é ótimo indicador de mastite subclínica (Bastan *et al.*, 1997). Vianni *et al.* (1990), verificaram que o CMT é um teste altamente eficiente, para estimar o conteúdo de células somáticas do leite.

As diferenças existentes entre manejos e tipos de ordenha são refletidas na contagem de células somáticas e no CMT. Rebanhos com boa técnica de ordenha, desinfecção de tetas pré e pós-ordenha, secagem adequada de vacas, tratamento com antibióticos para mastite clínica, além de preocupação com higiene e suplementação mineral adequada demonstram baixos índices de mastite e, proporcionalmente, baixa CCS e reações negativas ou baixas no CMT (BARKEMA *et al.*, 1998).

Segundo Brito *et al.* (1997), o CMT apesar de excelente teste para diagnóstico de mastite subclínica, tem um caráter subjetivo e dependendo da interpretação dos escores, pode produzir resultados falso-positivos ou falso-negativos, sendo então importante, a utilização da CCS para um diagnóstico mais seguro do rebanho. Além disso, segundo estes autores, os escores do CMT apresentam relações variadas com a CCS e na maioria das vezes, uma relação positiva.

O objetivo deste trabalho foi verificar a existência de relação entre a contagem de células

somáticas (CCS) e a ocorrência de mastite bovina, diagnosticada pelo California Mastitis Test (CMT), no leite de vacas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 160 amostras de leite, provenientes de 40 vacas mestiças leiteiras, todas com glândulas mamárias funcionais, com período de lactação variando de 80 a 200 dias pós-parto, no município de Uberlândia, MG. Do total de vacas analisadas, 20 eram sem bezerro ao pé e de ordenha mecânica, com circuito fechado, em tanque de expansão. Nestas, eram feitas duas ordenhas diárias, com intervalo de 9 horas da primeira para a segunda e a realização do CMT e coletas do leite foram feitas na ordenha da manhã. Nas outras 20 vacas, com bezerro ao pé, era utilizada a ordenha manual, com depósito do leite em latões de plástico e apenas uma ordenha diária, no período da manhã, quando foram realizados o CMT e as coletas do leite.

As coletas foram feitas em julho de 2000 e a idade dos animais e o número de lactações não foram levados em consideração. Após a realização do CMT, segundo a técnica de Schalm; Noorlander (1957), foram coletados em torno de 30 a 50 ml de leite de cada glândula mamária, em frascos de vidro esterilizados, individualmente identificados, quanto ao

número do animal e ao quarto coletado. Os materiais foram transportados, em caixa isotérmica, ao laboratório, onde, imediatamente, à chegada, as lâminas foram preparadas para a contagem de células somáticas, em esfregaços de leite, segundo a técnica de Prescott; Breed (1910) e coradas pelo método de Charlett (1954).

A contagem de células somáticas foi feita em microscópio óptico bi-ocular Olympus CBA. Considerou-se a contagem acima de 500.000 células/ml de leite, de acordo com a referência de Schalm et al. (1971), como o ponto de triagem para resultado positivo para mastite.

Foram feitas análises estatísticas através do teste de qui-quadrado (χ^2), para verificar dependência entre as variáveis CMT e CCS, o coeficiente de contingência (C), para verificar o grau desta dependência e o coeficiente de correlação (r), para verificar o grau e o sentido da associação entre estas duas variáveis (SPIEGEL, 1993; VIEIRA, 1998).

Como o CMT, é uma variável qualitativa nominal e a CCS é uma variável qualitativa ordinal, para se efetuar os cálculos de correlação (r) entre ambas, procedeu-se a codificação destas variáveis da seguinte forma: CMT (negativo e traços) = 0, CMT (+) = 1, CMT (++) = 2, CMT (+++) = 3 e CCS até 500.000 céls/ml = 0, CCS entre 500.000 e 1.000.000 céls/ml = 1, CCS entre 1.000.000 e

5.000.000 céls/ml = 2 e CCS acima de 5.000.000 céls/ml = 3. Estes códigos foram os mesmos utilizados por Lima Júnior; Vianni (1995).

RESULTADOS

De 160 amostras analisadas, 76,25% (122) demonstraram relação positiva entre CCS e CMT, onde a CCS foi baixa (<500.000 células/ml) e o CMT foi negativo e 15,62% (25) das amostras demonstraram que quando a CCS foi alta (>500.000 células/ml), o CMT também foi positivo (1, 2 ou 3 cruces). Portanto, 91,87% ou 147 casos, demonstraram alta dependência entre os resultados da CCS e do CMT. Apenas 8,12% ou 13 casos, demonstraram relação negativa, em que quando a CCS foi alta (>500.000 células/ml), o CMT foi negativo e quando a CCS foi baixa (<500.000 células/ml), o CMT foi positivo (tabela 1).

Analisando-se os resultados nos dois tipos de ordenha, ficou demonstrado que, na ordenha mecânica, de 80 glândulas mamárias testadas ocorreram 68,75% (55) de resultados com CCS abaixo de 500.000 células/ml de leite e com reação negativa ao CMT. Foram identificadas 23,75% (19) das amostras com CCS maiores que o referido valor e com CMT variando de uma cruz (+) até três cruces (+++), o que indica mastite subclínica ou clínica.

Portanto, 92,50% das amostras apresentaram relação positiva entre CCS e CMT, enquanto que em 7,50% (6) das amostras, a CCS foi acima de 500.000 células/ml, mas o CMT foi negativo (tabela 2).

Na ordenha manual, também tomando-se como parâmetro de avaliação a contagem para mastite acima de 500.000 células/ml, obteve-se 83,75% (67) das amostras com CMT negativo e CCS abaixo deste valor, e 7,50% (6) com CCS acima do referido valor e CMT variando de uma a três cruces, indicando mastite subclínica ou clínica. Ocorreram, também, alguns resultados anormais, em que 5,00% (4) das amostras foram CMT positivo e a CCS foi menor que 500.000 células/ml, e ainda, 3,75% (3) das amostras com CMT negativo, mas com uma contagem superior a 500.000 células/ml. Portanto, 91,25% dos casos mostraram uma relação positiva entre CCS e CMT (tabela 3).

Pelas análises estatísticas, ao nível de significância de 5%, o valor de qui-quadrado (χ^2) calculado foi de 92,25, enquanto que o coeficiente de contingência (C), foi de 0,60, sendo que só poderia chegar ao valor máximo de 0,70.

O coeficiente de correlação (r) foi obtido em três pareações. As variáveis CMT e CCS apresentaram na ordenha mecânica um coeficiente de correlação $r=0,78$ a um nível de significância de $p=0,00001$, em 80 observações. Na ordenha manual

os valores foram $r=0,70$, também a um nível de significância de $p=0,00001$ em 80 observações. Ao se fazer a análise total de 160 amostras, constatou-se um coeficiente de correlação entre as variáveis CMT e CCS, de $r=0,77$ a um nível de significância de $p=0,00001$.

Os resultados estatísticos mostraram a alta relação e significativa correlação entre as duas variáveis analisadas.

DISCUSSÃO

Os valores médios de CCS em relação aos escores de CMT, com uma alta relação de 91,87%, entre ambos, encontrados neste trabalho, são semelhantes à sensibilidade de 82 % do CMT positivo, com a CCS acima de 500.000 células/ml, encontradas por Brito et al. (1997). Também são semelhantes às observações de Vianni et al.(1990), que verificaram uma concordância de 93,70% entre os dois testes, em leite de búfalas (constatando semelhança com o leite bovino, nos dados de CMT e CCS), além de afirmarem uma elevada eficiência do CMT na estimativa do número de células somáticas do leite.

O coeficiente de correlação $r=0,77$ ($p=0,00001$) encontrado em 160 amostras, confirma a alta correlação entre as duas variáveis, que também foi observada por Lima Júnior; Vianni (1995), que

encontraram um coeficiente de correlação $r=0,83$ ($p<0,01$), em 122 amostras.

O estágio de lactação dos animais padronizado em 80 a 200 dias, não interferiu no CMT, nem na variação da CCS, pois, segundo Barkema et al. (1999), neste período intermediário, não há influência em um aumento fisiológico de células, como ocorre no início e no final da lactação.

As variações da CCS foram bastante sensíveis aos diferentes índices do CMT, nos dois tipos de ordenha, como foi observado por Bastan et al. (1997) e Silva et al. (1999), que concluíram que a CCS e o CMT do leite estão relacionados e podem ser usados para diagnóstico de mastite subclínica.

Os resultados considerados anormais, ou inesperados, onde a CCS e o CMT não estão relacionados, são insignificantes estatisticamente ($p>0,05$) e podem, segundo Brito et al. (1997), ser devido à subjetividade de interpretação de alguns casos, pelo CMT, ou devido a alguns outros fatores fisiológicos, envolvendo as propriedades físico-químicas do leite.

CONCLUSÃO

A contagem de células somáticas (CCS) e o “California Mastitis Test” (CMT) são altamente dependentes e possuem alta correlação no diagnóstico de mastite, em vacas em lactação.

ABSTRACT: The goal of this work, was to verify the relation between variations of somatic cell count (SCC) and results of the California Mastitis Test (CMT) of milk from cross-bred dairy cows at 80 to 200 days post-partum, in herds of mechanical and manual milking. The CMT was done during the morning milking, when also the milk was collected and after, prepared in smears and stained for the SCC, to the light microscopy. It was evident that mastitis is the most important factor in the elevation of SCC in the milk. The results showed that the SCC and the CMT are dependent and they had a high correlation, which was proved by statistical analysis.

UNITERMS: Somatic cells, California Mastitis Test, Bovine mastitis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNAC, N.; HAVRANEK, J. L.; SAMARZIJA, D. Somatic cells and their effect on the quality and processing of milk. *Mljekarstvo*, Zagreb, v. 47, n. 3, p. 183-193, 1997.

Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California mastitis test” (CMT), no diagnóstico de mastite bovina. *Biosci J.*, v.18, n. 1, p. 93-102, june 2002

BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; LAM, T. J. G. M.; BEIBOER, M. L.; BENEDICTUS, G.; BRAND, A. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 7, p. 1917-1927, 1998.

BARKEMA, H. W.; DELUYKER, H. A.; SCHUKKEN, Y. H.; LAM, T. J. G. M. Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 38, n. 1, p. 1-9, 1999.

BARNOUIN, J.; GEROMEGNACE, N.; CHASSAGNE, M.; DORR, N.; SABATIER, P. Factors of variation of herd bulk milk somatic cell count and mastitis frequency on 560 dairy herds located in 21 French Departements. **Productions Animales**, Paris, v. 12, n. 1, p. 39-48, 1999.

BASTAN, A.; KAYMAZ, M.; FINDIK, M.; ERUNAL, N. The use of electrical conductivity, somatic cell count and the California Mastitis Test to diagnose subclinical mastitis in cows. **Veteriner Fakultesi Dergisi**, Ankara, v. 44, n. 1, p. 1-6, 1997.

BEAUDEAU, F.; SEEGER, H.; FOURICHON, C.; HORTET, P. Association between milk somatic cell counts up to 400.000 cells/ml and clinical mastitis in French Holstein cows. **Veterinary Record**, London, v. 143, n. 25, p. 685-687, 1998.

BRITO, J. F. R.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S.; PAIVA E BRITO, M. A. V. Sensibilidade e especificidade do "California Mastitis Test" como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Coronel Pacheco, v. 17, n. 2, p. 49-53, abr./jun. 1997.

CHARLETT, S. A. An improved staining method for the direct microscopical containing of bacteria in milk. **Dairy Industry**, v. 19, n. 8, p. 652-653, 1954.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 77, p. 2103-2112, 1994.

LARANJA, L. F.; AMARO, F. Contagem de células somáticas: conceitos e estratégias de controle. **Balde Branco**, São Paulo, n. 408, p. 28-34, out. 1998.

LIMA JÚNIOR, A. D.; VIANNI, M. C. E. Correlação entre o “California Mastitis Test”, a contagem global de células somáticas e o exame bacteriológico no leite de cabras. **Revista Universidade Rural - Série Ciências da Vida**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p. 7-13, jun. 1995.

PHILIPSSON, J.; RAL, G.; BERGLUND, B. Somatic cell count as a selection criterion for mastitis resistance in dairy cattle. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 41, n. 3, p. 195-200, 1995.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis: counter attack**. Naperville: Babson Bros, 1991. 150 p.

PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of body cells in milk by a direct method. **Journal of Infection Diseases**, Chicago, v. 7, n. 5, p. 632-640, 1910.

RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 6, p. 1708-1720, 1986.

SCHALM, O. W.; CARROL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea; Febiger, 1971. 360 p.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 130, n. 5, p. 199-204, 1957.

SILVA, J. A. B. A.; PEREIRA, C. F.; MENDONÇA, C. L.; VIANNI, M. C. E. Utilização do “California Mastitis Test” (CMT) na detecção da mastite bovina no leite de conjunto de latões em usinas de laticínios.

Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 115-118, maio/jun. 1999.

SPIEGEL, M. R. **Estatística**. 3. ed. São Paulo: Makron Books, 1993. 643 p.

VIANNI, M. C. E.; NADER FILHO, A.; ROSSETTI, D. J. G.; LONGHI, J. L.; SICHER, M. Eficiência do “California Mastitis Test” (CMT) na estimativa do número de células somáticas do leite bubalino. **Ciência Veterinária**, Jaboticabal, v. 4, n. 2, p. 3-4, 1990.

VIEIRA, S. **Introdução à Bioestatística**. Petrópolis: Campus, 1998. 197 p.

TABELA 1

RELAÇÃO ENTRE CMT E CCS EM 160 AMOSTRAS DE LEITE, DE VACAS MISTIÇAS LEITEIRAS, EM UBERLÂNDIA, MG, 2000.

CMT	CCS			
	< 500.000	%	> 500.000	%
¹ -	122	76,25	9	5,62
+	4	2,50	17	10,62
++	0	0,00	6	3,75
+++	0	0,00	2	1,25
TOTAL	126	78,75	34	21,24

¹ Reações Negativa e Traços ao CMT

TABELA 2

RELAÇÃO ENTRE CMT E CCS EM 80 AMOSTRAS DE LEITE, DE VACAS MISTIÇAS LEITEIRAS, EM ORDENHA MECÂNICA, EM UBERLÂNDIA, MG, 2000.

CMT	CCS			
	< 500.000	%	> 500.000	%
¹ -	55	68,75	6	7,50
+	0	0,00	14	17,50
++	0	0,00	4	5,00
+++	0	0,00	1	1,25
TOTAL	55	68,75	25	31,25

¹ Reações Negativa e Traços ao CMT

TABELA 3

RELAÇÃO ENTRE CMT E CCS EM 80 AMOSTRAS DE LEITE, DE VACAS MISTIÇAS LEITEIRAS, EM ORDENHA MANUAL, EM UBERLÂNDIA, MG, 2000.

CMT	CCS			
	< 500.000	%	> 500.000	%
¹ -	67	83,75	3	3,75
+	4	5,00	3	3,75
++	0	0,00	2	2,50
+++	0	0,00	1	1,25
TOTAL	71	88,75	9	11,25

¹ Reações Negativa e Traços ao CMT