



INTERPRETAÇÃO DO *CALIFORNIA MASTITIS TEST* EM LEITE DE OVELHAS DA RAÇA LACAUNE

ANGELA MARIA RALDI^{1,2}, MARLA SCHNEIDER³, LUANA CAROLINA BACHMANN GREGOLIN³, MAIARA GARCIA BLAGITZ⁴

1 Introdução

Pouco se conhece sobre a glândula mamária de pequenos ruminantes, principalmente ovinos. Atualmente todos os métodos de diagnóstico e tratamento para mastite foram desenvolvidos pensando em bovinos. Assim, todas as informações são extrapoladas para pequenos ruminantes sem considerar as diferenças anatômicas e fisiológicas das glândulas destes animais. A mastite é inflamação da glândula mamária e é considerada uma das enfermidades mais importantes em rebanhos leiteiros. Pode ser classificada em clínica, a qual é diagnosticada durante o exame físico da glândula mamária e do leite ou subclínica, diagnosticada por testes durante a ordenha. Além disso, esta enfermidade caracteriza-se por alterações físico-químicas e microbiológicas no leite e no tecido glandular. (PEIXOTO, et al 2010; VERÍSSIMO, et al. 2010).

A criação de ovelhas vem crescendo gradativamente no Brasil e além do consumo de carne, a procura pelo leite cresce consideravelmente todos os anos. Não somente pelo fato de ser uma das alternativas para indivíduos intolerantes ao leite bovino principalmente crianças, mas também, esse produto é de fácil digestão pela presença de gorduras com glóbulos de tamanhos reduzidos e a maior proporção de ácidos graxos saturados de cadeia média, sendo assim uma ótima fonte de nutrientes (OLIVEIRA, et al., 2006). Por esse motivo é preciso estar sempre atento a qualquer sinal de afecções nos animais, com especial importância para a mastite que interfere na qualidade do produto final (VERÍSSIMO, et al. 2010).

O CMT (*California Mastitis Test*) é um teste subjetivo criado para auxiliar no diagnóstico de mastite subclínica em bovinos. Feitosa (2008) aponta que o CMT deve ser utilizado como um critério para identificar a mastite subclínica em caprinos e ovinos. Fisiologicamente os pequenos

1 Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, angela.mraldi99@gmail.com

2 GERFUS- Grupo de Estudos em Ruminantes da Fronteira Sul

3 Mestre em Saúde e Bem-Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, Médica Veterinária, Universidade Federal da Fronteira, *campus* Realeza

, Mestranda em Saúde e Bem-Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, Médica Veterinária, Universidade Federal da Fronteira, *campus* Realeza

4 Professora, Doutora, Médica Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, **Orientador**.



ruminantes possuem maior quantidade de células epiteliais quando comparado com os bovinos, podendo interferir na interpretação dos resultados do CMT destas espécies (SILVA et al., 2001).

Diante da limitação diagnóstica para mastite em pequenos ruminantes, o presente estudo buscou trazer novas informações para interpretação do CMT como método de diagnóstico de mastite subclínica em ovelhas leiteiras da raça Lacaune.

2 Objetivos

Objetivo Geral

-Avaliação da confiabilidade do CMT como método de diagnóstico rápido de mastite em ovelhas da raça Lacaune.

Objetivos Específicos

- Quantificação da celularidade do leite de ovelhas da raça Lacaune;
- Correlação dos resultados obtidos pelo CMT com a celularidade microscópica;
- Identificação dos tipos celulares envolvidos nos resultados do CMT;

3 Metodologia

Essa pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética e Uso de Animais (CEUA). Na sequência, foram utilizadas 50 ovelhas da raça Lacaune híbridas, com idade entre 2 e 7 anos. As amostras de leite foram coletadas no dia do parto (M1), 1 dia (M2), 3 dias (M3), 7 dias (M4), 15 dias (M5) e 30 dias após o parto (M6). Os animais selecionados foram considerados sadios pelo exame físico antes da execução do projeto na tentativa de evitar interferência de outras enfermidades no estudo.

Para a realização do CMT, os três primeiros jatos de leite foram descartados e na sequência as amostras individuais de cada teto foram coletadas. Foram adicionados 2 mL de leite e 2 mL de reagente em um dos poços da raquete e então homogeneizando em movimentos circulares, observando presença de viscosidade classificados em negativo, traços, uma, duas e três cruces. O último escore refere-se ao maior grau de viscosidade.

A Contagem de Células Somáticas (CCS) foi realizada empregando a técnica de Prescott & Breed (1910). As amostras foram coletadas em tubos do tipo falcon. No laboratório foram pipetadas amostras de 10 μ L de leite em lâminas, em área conhecida de 1cm² em formato quadrado, utilizando moldes específicos. Depois de secas, as lâminas foram fixadas com Metanol P.A. por 10 minutos e coradas pelo método May-Grunwald e Giemsa. Nos momentos 1 e 2, considerados ainda colostro, as amostras foram diluídas em proporção igual com *Phosphate Buffered Saline* (PBS). Foram contados 100 campos em microscópio óptico em aumento de 1000x observando os diferentes tipos celulares. Nesses 100 campos, que representa a seção mamária, foram



contabilizadas todas as células mononucleadas (MN) e polimorfonucleadas (PMN), obtendo o resultado de células somáticas por mL de leite após correção do fator do microscópio.

A análise foi feita utilizando software GraphPad Prisma 7 usando tabelas 2 x 2 e analisados por Mann Whitney Test e Correlação de Sperman. Foram considerados resultados estatisticamente significantes quando o valor de P foi $<0,05$.

4 Resultados e Discussão

Ao avaliar a celularidade do leite de ovelhas da raça Lacaune foi possível observar diferenças entre as células polimorfonucleares (PMN), mononucleares (MN) e celularidade total (TL). Estes resultados estão expressos na Tabela 1.

Ao analisar os PMN, MN e TL é possível perceber que ocorre uma redução da celularidade com o avançar da lactação. Entre os M1 e M2 não foram encontradas diferenças. Nesse período o animal produz colostro. Com o avançar da lactação, notou-se mudança da celularidade, como observado na diferença entre os momentos M3 e M6, que apresentam 27 dias entre as coletas. Portanto, quanto maior os dias de lactação menor foi a celularidade.

Além disso, conforme observado na Tabela 2, observou-se que o CMT apresentou uma correlação positiva e forte com as células polimorfonucleares e celularidade total, os quais foram 0,706 e 0,716 respectivamente. Nas células mononucleares encontramos uma correlação moderada, de 0,583. Este aumento da celularidade, principalmente de polimorfonucleares, ocorre devido ao canal do teto ser a porta de entrada para patógenos e ocorrer uma mobilização de células sanguíneas para defesa local (WINTER; COLDITZ 2002).

Na identificação dos tipos celulares envolvidos no CMT, os resultados estão expressos na Tabela 3. Estes resultados demonstraram diferenças na celularidade entre os momentos em amostras de leite com o mesmo escore de CMT.

5 Conclusão

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que o CMT pode ser utilizado como método de diagnóstico rápido de mastite em ovelhas da raça Lacaune mas com cautela.

Referências

- FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: A Arte Do Diagnóstico**. Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2000.
- OLIVEIRA, V. L. M. Aspectos do leite e mastite em ovinos da raça Santa Inês em Sergipe. **Master's in Agroecosystems, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão. 70p**, 2006.



PEIXOTO, R. M.; MOTA, R. A.; COSTA, M. M. da. Mastite em pequenos ruminantes no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 9, p. 754-762, 2010. Acesso em 05 de abril de 2019.

VERÍSSIMO, C. J. et al. Prejuízos causados pela mastite em ovelhas Santa Inês. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 77, n. 4, p. 583-591, 2010. Acesso em 05 de abril de 2019.

WINTER, P.; COLDITZ, T. G. Immunological responses of the lactating ovine udder following experimental challenge with *Staphylococcus epidermidis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, n. 89, p. 57-65, 2002.

Palavras-chave: Mastite, Prescott & Breed, Ovinos

Financiamento

CNPq

Tabela 1. Média e Desvio Padrão da celularidade do leite de ovelhas Lacaune

	PMN	MN	Total
M1	5,871a (± 0,796)	5,746a (± 0,514)	6,192a (± 0,635)
M2	5,800a (± 0,767)	5,385b (± 0,944)	6,046a (± 0,654)
M3	5,152b (± 0,922)	5,108c (± 0,550)	5,544b (± 0,600)
M4	4,922bc (± 1,109)	4,931d (± 0,714)	5,388c (± 0,582)
M5	4,925 bc (± 1,085)	5,030cd (± 0,428)	5,413bc (± 0,516)
M6	4,802c (± 1,215)	4,966d (± 0,475)	5,338c (± 0,588)

Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças estatísticas nos mesmos momentos, mas em grupos diferentes (P<0,05). PMN: Polimorfonucleares; MN: Mononucleares; M1: dia do parto; M2: 1 dia; M3: 3 dias; M4: 7 dias; M5: 15 dias; M6: 30 dias após o parto;

Tabela 2. Correlação dos resultados obtidos pelo CMT com a celularidade microscópica

	PMN	MN	Total
CMT	0,706	0,583	0,716
Valor P	0,000	0,000	0,000

PMN: Polimorfonucleares; MN: Mononucleares; CMT: *California Mastitis Test*

Tabela 3. Identificação dos tipos celulares envolvidos nos resultados do CMT

CMT	Momentos						
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	
PMN	0	5,323a (± 0,7812)	5,317a (± 0,5192)	4,700b (± 0,8346)	4,483bc (± 1,087)	4,555b (± 1,07)	4,256c (± 1,301)
	1	5,705a (± 0,4387)	5,417ab (± 0,555)	5,209bc (± 0,3846)	5,074c (± 0,3721)	5,195bc (± 0,4919)	5,137c (± 0,4341)
	2	6,008a (± 0,4946)	5,856a (± 0,4195)	5,694ab (± 0,4608)	5,484bc (± 0,2793)	5,591abc (± 0,5101)	5,210c (± 0,5679)
	3	6,067ab (± 0,6198)	6,297a (± 0,426)	6,160ab (± 0,1273)	6,163ab (± 0,3716)	5,758ab (± 0,573)	5,643b (± 0,717)
MN	0	6,629a (± 0,5211)	6,837a (± 0,5663)	6,485a (± 0,5203)	6,423a (± 0,2957)	6,384a (± 0,494)	6,181a (± 1,072)
	1	5,46a (± 0,404)	4,999b (± 1,249)	4,902cd (± 0,3973)	4,693ce (± 0,6837)	4,883d (± 0,3337)	4,753e (± 0,3466)
	2	5,511a (± 0,3854)	5,348a (± 0,3595)	4,927b (± 0,511)	4,975b (± 0,3095)	4,999b (± 0,259)	4,878b (± 0,2489)
	3	5,765a (± 0,5054)	5,471a (± 0,4074)	5,451ab (± 0,5068)	5,441a (± 0,3875)	5,36a (± 0,2419)	5,111b (± 0,3445)
TL	0	5,915a (± 0,4264)	5,783ab (± 0,5854)	5,385abc (± 0,2475)	5,226bc (± 0,5991)	5,315bc (± 0,4091)	5,355c (± 0,3558)
	1	6,214a (± 0,4298)	6,955a (± 0,5671)	5,89a (± 0,478)	5,844a (± 0,6734)	5,801a (± 0,524)	5,975a (± 0,4818)
	2	5,777a (± 0,5772)	5,625a (± 0,4756)	5,228bd (± 0,3758)	5,073c (± 0,324)	5,168d (± 0,2805)	5,013c (± 0,3706)
	3	5,944a (± 0,3882)	5,471a (± 0,3681)	5,447b (± 0,3168)	5,382b (± 0,2329)	5,455b (± 0,3549)	5,389b (± 0,2544)

Letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças estatísticas nos mesmos momentos, mas em grupos diferentes (P<0,05). PMN: Polimorfonucleares; MN: Mononucleares; TL: Total; CMT: *California Mastitis Test*; M1: dia do parto; M2: 1 dia; M3: 3 dias; M4: 7 dias; M5: 15 dias; M6: 30 dias após o parto;