



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CAMPUS II – AREIA-PB
CÊNTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MATEUS DE ASSIS SANTOS

ESTUDO DO KIT SOMATICELL COMPARADO A
MICROSCOPIA DIRETA PARA O DIAGNÓSTICO DE MASTITE
SUBCLÍNICA EM CABRAS

AREIA

2019

MATEUS DE ASSIS SANTOS

**ESTUDO DO KIT SOMATICELL COMPARADO A
MICROSCOPIA DIRETA PARA O DIAGNÓSTICO DE MASTITE
SUBCLÍNICA EM CABRAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em Zootecnia
pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientadora:

Prof^a. Dra. Carla Aparecida Soares Saraiva

Co-Orientador:

Méd. Vet. Mateus Lacerda Pereira Lemos

AREIA

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237e Santos, Mateus de Assis.

Estudo do kit Somaticell comparado a microscopia direta
para o diagnóstico de mastite subclínica em cabras /
Mateus de Assis Santos. - Areia, 2019.

32 f. : il.

Orientação: Carla Aparecida Soares Saraiva.

Coorientação: Mateus Lacerda Pereira Lemos.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Caprinocultura leiteira. 2. Glândula mamária. 3.
Inflamação. 4. Sanidade. I. Saraiva, Carla Aparecida
Soares. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE ZOOTECNIA

DEFESA DO TRABALHO DE GRADUAÇÃO

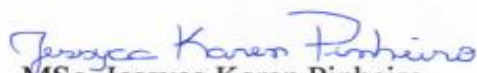
Aprovada em 10/06/2019.

**“ESTUDO DO KIT SOMATICELL COMPARADO A MICROSCOPIA
DIRETA PARA O DIAGNÓSTICO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM
CABRAS”**

Autor: **MATEUS DE ASSIS SANTOS**

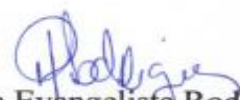
Banca Examinadora:


Prof.^a. Dr.^a. Carla Aparecida Soares Saraiva
Orientadora


MSc. Jessyca Karen Pinheiro
Examinadora – PDIZ/UFPB


Dr.^a. Beatriz Dantas Oliveira Fernandes
Examinadora – PDIZ/UFPB


Josemberto Rosendo da Costa
Secretário do Curso


Prof.^a. Adriana Evangelista Rodrigues
Coordenadora do Curso

*“O sucesso nasce do querer, da
determinação e persistência em chegar a
um objetivo. Mesmo não atingindo o
alvo, quem busca e vence obstáculos, no
mínimo fará coisas admiráveis”*

José de Alencar

Dedico:

A minha mãe, Rosana Alves de Assis Santos, por ser uma educadora, sempre mostrou a importância de lutar pelos nossos objetivos acadêmicos e profissionais, sempre priorizando valores éticos, morais e religiosos.

Ao meu pai, Antônio Deusimar Vaz dos Santos, por me mostrar a necessidade de persistir e encarar as coisas da vida com sabedoria e com responsabilidades.

As minhas irmãs, Ana Lívia de Assis Santos e Marina de Assis Santos por sempre me acompanhar nos momentos de alegria e de tristeza, sempre mostrando a importância da união.

A minha namorada, Thays Jesuita Oliveira de Souza, que mesmo diante das dificuldades, principalmente da distância, sempre se fez presente através de suas palavras de consolo e de motivação.

AGRADECIMENTOS

Em especial, ao senhor Deus por me conceder paciência e persistência para alcançar um dos os meus projetos de vida, além de agradecer, fielmente, aos meus pais pela oportunidade em estudar em uma instituição federal, sempre arcando com todos os investimentos necessários.

A Universidade Federal da Paraíba por me permitir a minha formação acadêmica em zootecnia.

A minha turma de graduação, em que sempre vou me recordar dos vários momentos que passamos juntos, dentre eles: Antoniel da Cruz, Diego Sousa, Thalys Pinto, Pedro Borba, Pedro Junior, Lucas Aurelio, Marlos Levi, Marcia Soares, Marta Santos, Jessyka Laura.

A todos os meus professores, em especial a prof^a Carla Saraiva pelos ensinamento profissionais e pessoais da vida. Sempre fazendo o papel de mãe, me aconselhando, guiando os meus passos durante toda essa trajetória de graduação, pelo acolhimento, oportunidade de ensinamentos, apoio, orientação, disponibilidade, dedicação e respeito.

Aos meus amigos Ronaldo Júnior, Mateus Lacerda, Lucas Coutinho, Layla Rodrigues, Tamires Macêdo, Isa Ypla, Thaína Cândido e Roberto Ítalo, além dos funcionário do Laticínio Escola, Ubirajara, Nalda e Francisco por contribuírem a positivamente na construção desse trabalho.

Enfim, a todos que participaram de alguma maneira e que contribuíram para a minha formação acadêmica.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Valores de média, máximo, mínimo e desvio padrão do leite caprino pelo método do kit Somaticell® e Microscopia direta.....	23
Gráfico 2	Coeficiente de correlação entre os dois métodos diagnósticos utilizados, cujo valor obtido fora de 0,27 ($p>0,01$).....	24

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Tubo de polipropileno para análise de CCS.....	19
Figura 2	Coletores de polipropileno para análise físico-química.....	19
Figura 3	Kit Somaticell®.....	20
Figura 4	Leitura do kit Somaticell®.....	20
Figura 5	Lâminas sendo coradas.....	21
Figura 6	Secagem das lâminas.....	22

LISTA DE TABELA

Tabela 1	Valores de média, máximo, mínimo e desvio padrão dos resultados encontrados na análise físico-química do leite caprino.....	25
-----------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E DE SIGLAS

MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
IN 37	Instrução Normativa N° 37 Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra
CCS	Contagem de Células Somáticas
CBT	Contagem Bacteriana Total
WMT	Wisconsin Mastitis Test
CMT	California Mastitis Test
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
CCA	Centro de Ciências Agrárias
LAPOA	Laboratório de Análises de Produtos de Origem Animal

LISTA DE SÍMBOLOS

mL	Mililitro
g	Grama
%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
®	Comercial

RESUMO

ESTUDO DO KIT SOMATICELL COMPARADO A MICROSCOPIA DIRETA PARA O DIAGNÓSTICO DE MASTITE SUBCLÍNICA EM CABRAS

A qualidade do leite está correlacionada diretamente com a saúde da glândula mamária, podendo também sofrer a influência de outros fatores, dentre eles a mastite, a qual se enquadra entre o fator mais significativo capaz de alterar as propriedades físico-químicas do leite. Objetivou-se com esse estudo avaliar eficiência do kit Somaticell em relação à técnica da microscopia direta para a estimativa de Contagem de Células Somáticas (CCS) no leite caprino. O experimento foi realizado no período de fevereiro a maio de 2019 em que foram coletadas 138 amostras de leite cru de caprinos mestiços, de 46 produtores que faziam parte de duas associações de caprinocultores leiteiros, localizados nos municípios de Gurjão-PB e Santo André-PB. Logo após à recepção do leite de cada produtor, procedeu-se às coletas de três amostras: 46 amostras para análise físico-química, 46 amostras para análise de CCS pelo kit Somaticell® e 46 amostras para análise de CCS pelo método de microscopia direta. Ao verificar as médias de CCS no leite caprino, observou-se que as mesmas foram discrepantes, sendo 1.695.870 cél/mL para microscopia direta e 475,217 cél/mL para o kit Somaticell®. Além disso, não houve correlação ($p>0,01$) entre os dois métodos estudados. Considerando a média dos resultados obtidos das propriedades físico-químicas do leite caprino, foram encontrados 3,42 % para proteína, 5,07 % para lactose, 9,30 % para sólidos não gordurosos, 13,49 % para sólidos totais, 1032,4 g/m³ para densidade e -0,600 °C para o ponto de congelamento. Conclui-se que, o kit Somaticell tem baixa sensibilidade para a CCS em cabras, o qual não deve ser utilizado para detecção de mastite subclínica em fêmeas caprinas.

Palavras chave: caprinocultura leiteira, glândula mamária, inflamação, sanidade.

ABSTRACT

SOMATICCELL KIT STUDY COMPARED DIRECT MICROSCOPY FOR THE DIAGNOSIS OF SUBCLINICAL MASTITIS IN GOATS

The quality of milk is directly correlated with the health of the mammary gland and may also be influenced by other factors, among them mastitis, which is among the most significant factor capable of altering the physical and chemical properties of milk. The objective of this study was to evaluate the efficiency of the Somaticell kit in relation to the direct microscopy technique for the estimation of Somatic Cell Count (CCS) in goat milk. The experiment was carried out from February to May 2019, in which 138 samples of raw milk from mestizo goats were collected from 46 producers that were part of two associations of dairy goats, located in the municipalities of Gurjão-PB and Santo André-PB. Immediately after receiving the milk from each producer, three samples were collected: 46 samples for physicochemical analysis, 46 samples for analysis of CCS by the Somaticell® kit and 46 samples for analysis of CCS by the direct microscopy method. When checking the CCS averages in the goat milk, it was observed that they were discrepant, being 1,695,870 cells / mL for direct microscopy and 475,217 cells / mL for the Somaticell® kit. In addition, there was no correlation ($p > 0.01$) between the two methods studied. Considering the average of the physical-chemical properties of goat milk, 3.42% for protein, 5.07% for lactose, 9.30% for non-greasy solids, 13.49% for total solids, 1032, 4 g / m³ for density and -0,600 ° C for the freezing point. It is concluded that the Somaticell kit has low sensitivity for CCS in goats, which should not be used for detection of subclinical mastitis in goat females.

Keywords: dairy goat, mammary gland, inflammation, sanity.

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 <i>IMPORTÂNCIA E HISTÓRICO DA CAPRINOCULTURA</i>	16
2.2 <i>ETIOLOGIA E OS METODOS PARA O DIAGNÓSTICO DA MASTITE</i>	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 <i>KIT SOMATICELL</i>	20
3.2 <i>MICROSCOPIA DIRETA</i>	21
3.3 <i>ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA</i>	22
3.4 <i>ANÁLISE ESTATÍSTICA</i>	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5. CONCLUSÃO	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	28

1. INTRODUÇÃO

A criação de caprinos, por não necessitar de um investimento inicial tão alto comparado com as demais atividades pecuárias, vem tornando-se uma alternativa, principalmente, para o pequeno produtor. Com isso, a caprinocultura assume um papel fundamental para o desenvolvimento socioeconômico do país.

A produção de leite caprino vem se destacando no âmbito nacional, mesmo em regiões onde as características edafoclimáticas para atividade sejam adversas. Entretanto, o sucesso da atividade está relacionada diretamente com a qualidade e higiene do leite que são os grandes desafios dos produtores.

Diante disso, sabe-se que a qualidade do leite está relacionada diretamente com a saúde da glândula mamária, podendo também sofrer a influência de outros fatores, dentre eles a mastite, a qual se enquadra entre o fator mais significativo capaz de alterar as propriedades físico-químicas do leite. É caracterizada como sendo uma enfermidade que atinge a glândula mamária, além de aumentar a quantidade de células somáticas no leite (BAGGIO & MONTANHINI, 2017).

A mastite pode ser diagnosticada por métodos diretos e indiretos. Os diretos baseiam-se na identificação do agente etiológico presente nas amostras de leite que são encaminhadas aos laboratórios, dentre estes, podem ser citados a contagem de CCS por microscopia direta e os analisadores eletrônicos. Então, com o propósito de monitorar a qualidade do leite, utiliza-se como indicador a contagem de células somáticas (CCS), que além de identificar a mastite subclínica, é um dos testes diagnóstico mais consagrados (FONSECA & SANTOS, 2000).

Contudo, apesar de ser utilizada como a metodologia de referência para a determinação de CCS no leite, a determinação eletrônica de CCS não é o mais recomendado, uma vez que, demandam muito tempo para ser realizada e torna-se inviável para rebanhos com grande número de animais (MOTA, 2008; SILVEIRA et al., 2005).

O uso de equipamentos práticos e confiáveis para determinação de CCS, em nível de campo, surge como uma alternativa para o produtor, em que muitas vezes, o envio das amostras para os laboratórios demanda tempo e, podendo assim, comprometer uma possível medida de solução para o problema (PEREIRA, 2012).

O kit Somaticell® tem sido utilizado com sucesso para diagnosticar mastite subclínica em vacas, pois, uma vez utilizado, o kit apresenta vários benefícios como: praticidade, acessibilidade e eficiência.

O kit Somaticell é uma adaptação do Wisconsin Mastitis Teste (WMT), teste que visa correlacionar a CCS de forma qualitativa e indireta no diagnóstico da mastite. (PEREIRA, 2012). O WMT se baseia no aumento da viscosidade, em que, após a mistura com o reagente, a viscosidade é diretamente proporcional à concentração de células somáticas presentes no leite (KROGER & JASPER, 1967).

Ao compararem o kit Somaticell® com o California Mastitis Test (CMT), Medeiros et al. (2008) observaram que o kit apresentou uma sensibilidade de 99,51% e 3,8% de especificidade, assim, podendo ser recomendado como teste de triagem para o diagnóstico de mastite subclínica em vacas. Entretanto, inexistem pesquisas referentes ao uso do kit Somaticell para o leite de cabra.

Neste contexto, objetivou-se com esse estudo avaliar a eficiência do kit Somaticell em relação à técnica da microscopia direta para a estimativa de CCS no leite caprino.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA E HISTÓRICO DA CAPRINOCULTURA

A caprinocultura está presente em quase todos os países, é uma atividade que está relacionada ao homem desde o início das civilizações, foi determinante para o estabelecimento de cidades devido ao fornecimento de pele, carne e leite (SAMPAIO et al., 2009). A espécie caprina, como também a ovina, tiveram sua domesticação 7.000 anos A.C., ficando atrás apenas da domesticação dos cães, sendo também o primeiro animal utilizado para a produção de leite, tendo sua origem na Ásia Central e graças as suas características peculiares de adaptação aos diferentes ambientes, foi rapidamente difundida por todo o mundo (SILVA et al., 2015).

No Brasil, onde foi trazida pelos colonizadores portugueses, a espécie caprina serviu como fonte importante de suprimentos, principalmente nas regiões semiáridas (CORDEIRO, 2006). Atualmente, o efetivo de caprinos no Brasil é de aproximadamente 8,2 milhões de cabeças, o Nordeste detém o maior efetivo de caprinos, sendo responsável por 92,8% do total da espécie no país, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017).

Bomfim et al. (2013) afirmam que mesmo diante de tal perspectiva, não há um hábito da população em consumir o leite e seus derivados como em outras regiões, em que, na maioria das vezes, o leite caprino é destinado aos programas sociais do governo. Ainda de acordo com os autores, o preconceito está relacionado com a qualidade e flavor do leite caprino, que quando é submetido há ordenha inadequada tem a sua qualidade ainda mais comprometida.

De acordo com o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), “o leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados”.

O leite caprino quando comparado ao leite bovino apresenta algumas particularidades, dentre elas, melhor digestibilidade, maior capacidade tamponante, maiores níveis de vitamina A, fator este, responsável pela coloração mais esbranquiçada do leite que está associada a conversão do β -caroteno em vitamina A (PARK et al., 2007). Eles ainda observaram que sua composição dispõe de alguns elementos necessários para à nutrição humana como gordura, açúcares, proteína, sais minerais e vitaminas.

Segundo Costa et al. (2009) o leite caprino devido as suas propriedades físico-químicas e microbiológicas vem sendo estudado com o intuito de obter um produto de qualidade e aceitação pelos consumidores. Ainda segundo esses autores, os glóbulos de gordura do leite caprino são menores comparado ao leite bovino pelo fato que 20% dos ácidos graxos do leite são de cadeia curta, justificando sua melhor digestibilidade.

A Instrução Normativa N° 37 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000) estabelece os seguintes parâmetros para proporcionar a qualidade do leite integral caprino tais como: proteína total mínima de 2,8%; lactose mínima 4,3%; 8,2% para sólidos não gordurosos; 0,7% de cinzas; a gordura, por sua vez, não apresenta uma média específica, devido ser o componente de maior variação, porém há de ser considerado valor abaixo de 2.9 % apenas mediante a comprovação genética do rebanho; índice crioscópico de -0,550°C a -0,585°C; pH em média de 6,45; acidez de 0,13% a 0,18% (% de ácido láctico); densidade a 15°C de 1,028 g/mL a 1,034 g/mL.

Nesse contexto, Sanz Sampelayo et al. (2007) afirmam que a composição do leite caprino pode variar de acordo com condições climáticas, estágio de lactação, idade, raça, alimentação, ciclo estral e estado sanitário do animal.

Santos et al. (2011) afirmam que a partir do leite caprino podem ser fabricado queijos, iogurtes, bebidas lácteas, doce de leite, utilizando-se processos simples acessíveis ao pequeno produtor, dessa forma além de estimular o consumo de produtos de origem caprina, pode ser uma forma de agregação de valor e renda ao produto.

2.2 ETIOLOGIA E OS METODOS PARA O DIAGNÓSTICO DA MASTITE

Em criações leiteiras, a mastite é umas das principais enfermidades e sua prevalência está relacionada ao animal, ao agente etiológico e ao ambiente (CONTRERAS *et al.*, 2007). Sendo uma doença de natureza infecciosa, ela acomete a glândula mamária ocasionando danos ao parênquima, conseqüentemente ocorre a redução da produção de leite, alteração da composição, além do aumento da CCS (SANTOS & FONSECA, 2007).

A mastite pode ser classificada em subclínica e clínica. Na forma subclínica não ocorrem alterações visíveis da glândula mamária ou do leite, entretanto, a composição do leite é alterada, com alta CCS e de proteínas séricas, diminuição nos teores de lactose, gordura, caseína e cálcio do leite (GIANOLA *et al.*, 2004). Na forma clínica, os sinais são evidentes pela manifestação dos processos inflamatórios da glândula mamária e pela alteração visível no leite tais como: grumos, pus, sangue, etc (PINHEIRO *et al.*, 2007).

Pesquisas apontam que a mastite subclínica é a mais predominante nos rebanhos, com prevalência estimada entre 5 a 30%, é causada, principalmente, pelo *Staphylococcus coagulase negativa* (SNC). Já a mastite clínica apresenta ocorrência em torno de apenas 5%, sendo *Staphylococcus aureus* o principal causador, na maioria dos casos. Este, por sua vez, está associado com a falta de higienização dos equipamentos de ordenha, mãos do ordenhador e antissepsia dos tetos da cabra. Além desses, tem-se ainda as bactérias do gênero *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* e algumas espécie de fungos, contudo são menos frequentes (CONTRERAS et al., 2007).

A avaliação de um diagnóstico sempre utiliza outro teste teoricamente melhor que aquele, denominado padrão-ouro. Idealmente, o padrão-ouro não deveria ter resultado falsos, ou seja, deveria possuir 100% de sensibilidade e 100% especificidade. A sensibilidade é definida como sendo a capacidade do teste em detectar tal enfermidade, enquanto especificidade está relacionada com a probabilidade de um teste dar negativo na ausência de tal enfermidade (MEDRONHO et al., 2008).

A mastite pode ser diagnosticada por métodos diretos e indiretos. Os diretos baseiam-se na identificação do agente etiológico presente nas amostras de leite que são encaminhadas aos laboratórios, dentre estes, podem ser citados a contagem de CCS por microscopia direta e os analisadores eletrônicos. Contudo, apesar de ser utilizada como a metodologia de referência para a determinação de CCS no leite, a determinação eletrônica de CCS não é o mais recomendado, uma vez que, demandam muito tempo para ser realizada e torna-se inviável para rebanhos com grande número de animais (MOTA, 2008; SILVEIRA et al., 2005).

Em contrapartida, os métodos indiretos fundamentam em critérios de evolução de intensidade da reação inflamatória. Como exemplos têm-se Wisconsin Mastitis Test (WMT), CMT e o teste da condutividade elétrica (SILVEIRA et al., 2005).

Medeiros et al. (2008) compararam o Somaticell ao CMT para o diagnóstico da mastite subclínica em bovinos leiteiros e observaram uma sensibilidade de 99,51% enquanto a especificidade foi de apenas 3,8%. Eles constataram que o Somaticell pode ser recomendado como teste de triagem para o diagnóstico de casos individuais de mastite subclínica causada por agentes contagiosos ou ambientais, pois apresentaram resultados satisfatórios na detecção de amostras positivas ao exame microbiológico. Preferencialmente, utiliza-se a CCS para o diagnóstico da mastite subclínica em todas as espécies de ruminantes leiteiros (MOTA, 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

No período de fevereiro a maio de 2019, foram coletadas 138 amostras de leite cru de caprinos mestiços, de 46 produtores, os quais faziam parte de duas associações de caprinocultores leiteiros localizados nos municípios de Gurjão e Santo André, ambos localizados na microrregião Cariri Oriental Paraibano e Mesorregião da Borborema, no estado da Paraíba. As amostras de leite foram coletadas em latões dos pequenos produtores assim que chegavam a sede da associação.

Logo após à recepção do leite de cada produtor, procedeu-se a coleta de três amostras de cada: 46 amostras para análise físico-química, 46 amostras para CCS pelo Kit somaticell e 46 amostras para análise de CCS pelo método de microscopia direta. A análise pelo kit Somaticell foi realizada no momento da coleta do leite, enquanto as outras duas amostras com 40 ml de leite cada em potes de polipropileno estéreis foram imediatamente alocadas em caixa de isopor contendo gelo e transportada para o Centro de Ciências Agrárias da UFPB.



Figura 1 – Tubo de polipropileno para análise de CCS.



Figura 2 – Coletores de polipropileno para análise físico-química.

3.1 KIT SOMATICELL

O procedimento de análise indireta da CCS no leite pelo Kit Somaticell (n=46) seguiu-se da seguinte forma: em um tubo próprio do fabricante, na posição vertical, foi adicionado 2 mL do reagente e, em seguida, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi adicionado 2 mL de leite caprino. A mistura foi homogeneizada com auxílio de um bastão, fazendo-se 30 movimentos consecutivos, durante 20 a 24 segundos. Após a etapa de homogeneização, o tubo foi lacrado e invertido, permanecendo assim por 30 segundos e, então, retornado a sua posição inicial. Transcorridos 5 segundos, procedeu-se à leitura em escala graduada própria do tubo.



Figura 3 – Kit Somaticell.



Figura 4 – Leitura do kit Somaticell.

3.2 MICROSCOPIA DIRETA

A outra parte das amostras de leite devidamente refrigerada foi levada ao Laboratório de Análises de Produtos de Origem Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (LAPOA/CCA/UFPB), para determinação de CCS (n=46) pelo Método de Microscopia Direta.

A Contagem de Células Somáticas por Microscopia Direta, foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Prescott & Breed (1910), e as lâminas coradas com corante Pyronina-Y. Foi distribuído um volume de 10 µL de leite caprino (em duplicata) em uma área de 1 cm² em lâmina de vidro previamente limpa e desengordurada. Após a secagem, o esfregaço foi fixado em solução de Carnoy por 5 minutos. Depois de fixadas, as lâminas foram hidratadas por um minuto, em álcool etílico a 50% e em álcool etílico a 30%, respectivamente. Após a fixação, as lâminas foram coradas por 6 minutos em solução fresca preparada com Pyronina-Y a 0,5% e verde de metil a 0,3% em água destilada.

Em seguida, as lâminas foram imersas por um minuto em álcool n-butílico e água destilada, respectivamente (ZENG et al, 1999). Posteriormente, as contagens de células somáticas foram realizadas com o auxílio do microscópio óptico (objetiva de 100 X com óleo de imersão) onde foi realizada a contagem de 60 campos em cada um dos esfregaços. Após a contagem foi realizada a média de células por campo e o número de células foi determinado com o auxílio da seguinte equação: $N = FM \times X \times 100$, onde: N é o número total de células somáticas em cada esfregaço, FM o fator microscópico, X a média de células por campo e 100 o fator de conversão de µL para mL.



Figura 5 – Lâminas sendo coradas.



Figura 6 – Secagem das lâminas.

3.3 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

A terceira parte das amostra também foi devidamente refrigerada e levada até o Laticínio Escola do CCA/UFPB para as análises físico-químicas (n=46), isto é, gordura, proteína, lactose, sólidos não gordurosos, sólidos totais, densidade e ponto de congelamento, foram avaliadas por ultrassom, utilizando-se equipamento Master Classic Complete (AKSO Produtos Eletrônicos Ltda) no Laticínio Escola do CCA/UFPB.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados nesta pesquisa foram organizados e avaliados utilizando-se estatística descritiva, análise de variância (ANOVA) e análise de correlação (analisados através do Coeficiente de Correlação de Pearson). Os procedimentos estatísticos foram efetuados utilizando-se o programa R VERSION 3.5.3.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao verificar as médias de CCS no leite de cabra, pelos métodos da microscopia direta e pelo kit Somaticell®, observou-se que as mesmas foram bem discrepantes, pois enquanto a média da microscopia direta foi de 1.695.870 cél/ml, a relativa para o kit Somaticell foi de 475.217 cél/ml (Gráfico 1). Não existe um padrão definido de CCS para o leite caprino, uma vez que, segundo a IN 37 há apenas o limite máximo para contagem bacteriana total (CBT), entretanto, a legislação não trata a respeito do limite máximo da CCS em leite caprino.

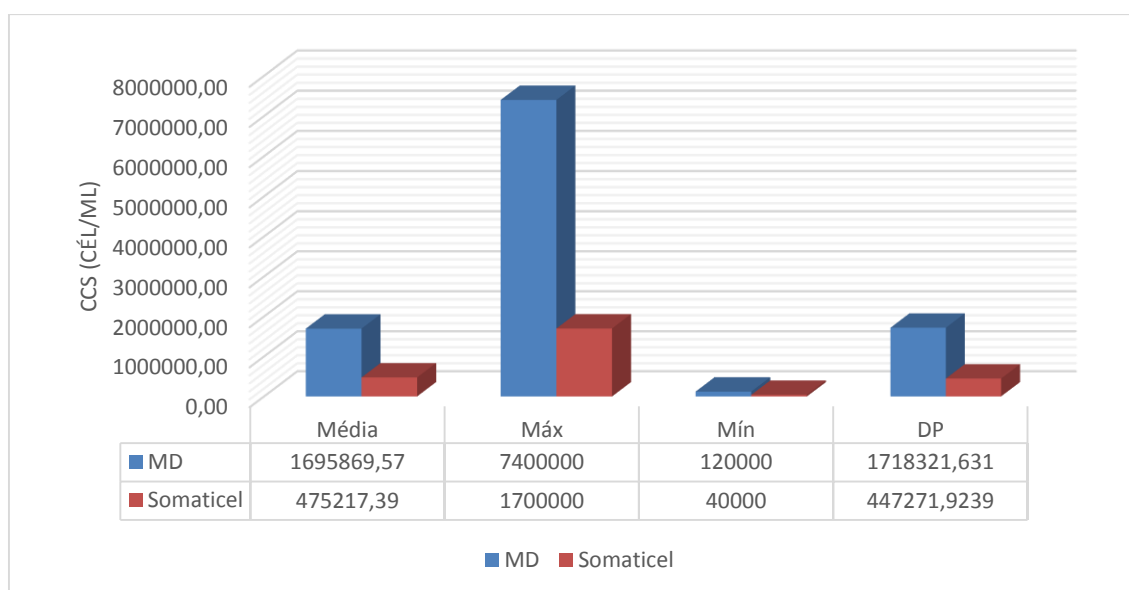


Gráfico 1 – Valores de média, máximo, mínimo e desvio padrão do leite caprino pelo método do kit Somaticell® e Microscopia direta.

Além disso, observou-se que não houve correlação ($p > 0,01$) entre o método de diagnóstico kit Somaticell® e a microscopia direta (Gráfico 2), corroborando, assim, com a dissimilaridade entre a microscopia direta e o uso do kit Somaticell® para avaliação de CCS em leite de cabra.

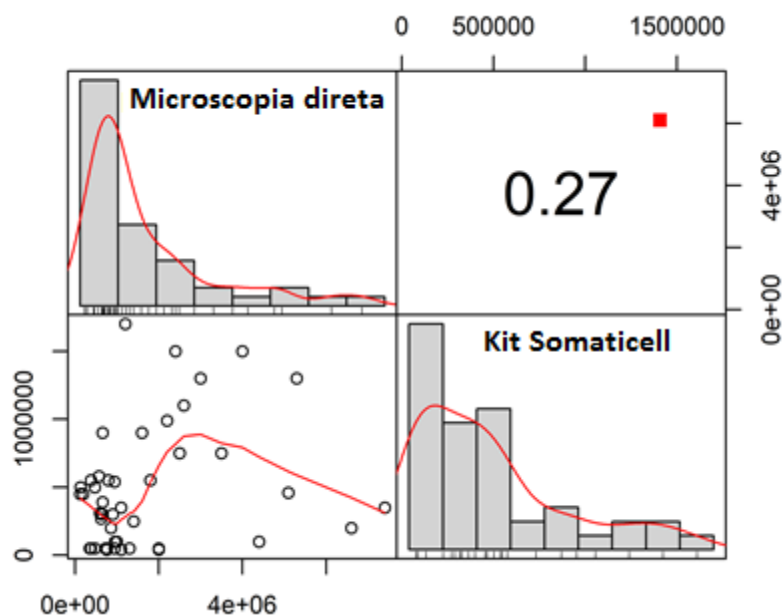


Gráfico 2 – Coeficiente de correlação entre os dois métodos diagnósticos utilizados, cujo valor obtido fora de 0,27 ($p > 0,01$).

Viana et al. (2010) correlacionando a CCS, utilizando contador automático de células somáticas e o kit Somaticell®, em leite bubalino, obteve uma baixa correlação, devido, provavelmente, à existência de fatores como particularidades da espécie, variabilidades inerentes ao sistema de criação e manejo das búfalas leiteiras estudadas.

Em um estudo, com a finalidade de comparar vários métodos diagnósticos de mastite utilizando os seguintes testes: kit Somaticell®, CCS por microscopias eletrônica e direta e o CMT, em vacas leiteiras no início da lactação, Ferronato et al. (2018) constatarem ótimos indicadores para um teste diagnóstico (sensibilidade e especificidade) em todas as técnicas. Resultados similares foram observados por Rossi et al. (2018) que foi capaz de constatar boas estimativas de sensibilidade para o kit Somaticell® ao detectar mastite, em vacas leiteiras, causada por *Staphylococcus aureus*.

Diferente de vacas sadias, as células somáticas normalmente são numerosas no leite de cabra, já que o tipo de secreção láctea é do tipo apócrina (SANTOS et al., 2015), enquanto que, no leite de vaca, a secreção é do tipo merócrina. Isto se deve ao fato que, durante o processo de secreção do leite, em cabras, parte das células epiteliais alveolares são eliminadas no lúmen das glândulas acinares sob a forma de partículas citoplasmáticas, cujos tamanhos são variáveis (MADUREIRA et al., 2010). A implicação disto pode

acarretar, erroneamente, numa superestimação da contabilização de células somáticas na avaliação da CCS (SOUZA et al., 2007).

Paape et al. (2007) ao analisar a CCS de rebanhos caprinos leiteiros nos EUA, constatou um padrão de normalidade de 1.000.000 cél/mL, cuja variação foi de 200.000cél/mL (valor mínimo), em 15 dias de lactação, até 1.150.000cél/mL, em 285 dias de lactação. O leite caprino, no final da lactação, pode apresentar ainda altos valores de CCS, chegando a 2.000.000cél/mL (MCDONALDO & ANDERSON, 1981).

McDougall et al. (2001) concluíram que a CCS pode ser utilizada como método diagnóstico indireto da mastite infecciosa em cabras leiteiras. Apesar disto, há grandes variações das contagens destas células em cabras, devido aos vários fatores envolvidos na fisiologia da lactação desta espécie, tais como o estro, estresse, dias de lactação e etapa da ordenha (HAELEIN, 2002).

Ao analisar o leite caprino de 133 cabras da raça Saanen em diferentes estágios da lactação, Pereira et al. (2016) conseguiram obter isolamentos bacterianos em 48% das amostras, das quais o *S. aureus* foi o patógeno mais frequente, no entanto, os valores de CCS encontrados não corresponderam aos resultados do isolamento bacteriano, logo o diagnóstico indireto da mastite subclínica, em cabras, deve ser avaliado com cautela.

Considerando a média dos resultados obtidos no presente estudo das propriedades físico-químicas do leite caprino (Tabela 1), constatou que os teores médios para proteína, lactose e sólidos não gordurosos estão dentro do limite mínimo preconizado pela legislação que são de 2.8%, 4.3% e 8.2%, respectivamente. Em relação ao teor de gordura do leite integral caprino, a IN 37 não estabelece um valor padrão para tal componente, porem valores menores de 2.9% devem ser comprovados pelo produtor que é um fator genético do rebanho, considerando também essa mesma regra para sólidos totais.

Tabela 1 – Valores de média, máximo, mínimo e desvio padrão dos resultados encontrados na análise físico-química do leite caprino.

	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Gordura (%)	4,19	3,00	5,55	0,574
Proteína (%)	3,42	2,87	3,76	0,158
Lactose (%)	5,07	4,25	5,55	0,223
SNG (%)	9,30	7,78	10,17	0,424
Sólidos totais (%)	13,49	10,78	15,64	0,913
Densidade (g/m³)	1032,40	1027,60	1035,15	1,300
PC (°C)	-0,600	-0,670	-0,487	0,033

SNG – Sólidos não gordurosos; PC – Ponto de congelamento.

Já em relação a densidade, a média encontrada está dentro do intervalo estabelecido pela IN 37 que é de 1,028 g/mL a 1,034 g/mL, a 15°C. E por fim, a média observada do ponto de congelamento do leite está fora do recomendado pela legislação, cujo o intervalo é de -0,550°H a -0,585°H. Entretanto, Beloti & Tamanini (2015) afirmam que a média do ponto de congelamento do leite bovino deve ser estabelecido para cada região. Dias et al. (1995) afirma que a composição físico-química do leite pode variar de acordo com clima, nutrição, estágio de lactação, raça, entre outros.

5. CONCLUSÃO

O kit Somaticell tem baixa sensibilidade para a CCS em cabras, o qual não deve ser utilizado para detecção de mastite subclínica em fêmeas caprinas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

BAGGIO, A. P.; MONTANHINI, M. T. M. Qualidade de leite cru produzido na região do Norte Pioneiro do Paraná. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 11, n. 2, p. 184-189, 2017.

BELOTI, V.; TAMANINI, R. **Propriedades Organolepticas e Físico-Químicas do leite**. Leite: obtenção, inspeção e qualidade. Londrina: Editora planta, 2015, p. 69.

BOMFIM, M. A. D.; SANTOS, K. M. O.; QUEIROGA, R. C. R. E.; CORDEIRO, P. C.; OLIVEIRA, L. S. Produção e Qualidade do Leite de Cabra no Brasil. **In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA** (Zootecnia do Futuro: Produção Animal Sustentável) Universidade Estadual do Oeste do Paraná Foz do Iguaçu/PR, 06 a 09 de maio de 2013.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 37, DE 31 DE OUTUBRO DE 2000c. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra**. Publicado no Diário Oficial da União de 08/11/2000, seção 1, p. 23, 2000.

CONTRERAS A.; SIERRA D.; SÁNCHEZ A.; CORRALES J. C.; MARCO J. C.; PAAPE M. J; GONZALO C. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**. v. 68, p. 145-153, 2007.

CORDEIRO, P. R. C. Mercado do leite de cabra e de seus derivados. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**. 12(39): 32-43. 2006.

COSTA, R. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; PEREIRA, R. A. G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 307-321, 2009.

DIAS, J. M.; TANEZINI, C. A.; PONTES, I. S.; OLIVEIRA, A. B. C.; D'ALESSANDRO, W. T.; SOUZA, J. T. Características minerais do leite caprino in natura da bacia leiteira de Goiânia. **Ciência de Tecnologia Alimentar**. Campinas, v.15, n.1, p. 24-28, 1995.

FERRONATTO, J. A.; FERRONATTO, T. C.; SCHNEIDER, M.; PESSOA, L. F.; BLAGITZ, M. G.; HEINEMANN, M. B.; SOUZA, F. N. (2018). Diagnosing mastitis in early lactation: use of Somaticell®, California mastitis test and somatic cell count. **Italian Journal of Animal Science**, 17(3), 723-729, 2018.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos, p. 179, 2000.

GIANOLA, D., HERINGSTAD, B., KLEMETSDAL, G., CHANG, Y. M. **Longitudinal analysis of clinical mastitis at different stages of lactation in Norwegian cattle**. **Livest. Prod. Sci.** 88:251-261, 2004.

HAENLEIN, G. F. W. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. **Small ruminant research**, v. 45, n. 2, p. 163-178, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE. Censo agropecuário 2017 resultados preliminares. **Disponível em** >https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75662<. Acesso em 01 de março de 2019.

KROGER, D. & JASPER, D. E. **Relationships Between Wisconsin Mastitis Test Scores and Cell Counts in Milk**. **Journal of Dairy Science**, 1967.

MADUREIRA, K. M.; GOMES, V.; CASTRO, R. S.; KITAMURA, S. S.; ARAÚJO, W. P. Análise das metodologias diretas e indiretas para a contagem de células somáticas do leite de cabras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 311-316, 2010.

MCDONALD, J. S.; ANDERSON, A. J. **Total and differential somatic cell counts in secretions from noninfected bovine mammary glands**. The peripartum period. **Am. J. Vet. Res.** 42, 1366–1368, 1981.

MCDUGALL, S., MURDOUGH, P., PANKEY, W., DELANEY, C., BARLOW, J., SCRUTON, D. Relationships among somatic cell count, California mastitis test,

impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, v. 40, n. 3, p. 245-254, 2001.

MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; PEIXOTO, R. M.; SILVA FILHO, A. P.; FARIA, E. B.; MOTA, R. A. Avaliação do exame microbiológico, California Mastitis Test e Somaticell® no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos leiteiros. **Medicina Veterinária**, Recife, v.2, n.2, p.16-22, 2008.

MEDRONHO, R. A.; BLOCK, K. V.; LUIZ, R. R.; WERNECK, G. L. **Epidemiologia**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, p. 389-390, 2008.

MOTA R. A. 2008. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. **Tecnologias E Ciências Agropecuárias**, v. 2, n. 3, p. 57-61, 2008.

PAAPE, M. J.; WIGGANS, G. R.; BANNERMAN, D. D.; THOMAS, D. L.; SANDERS, A. H.; CONTRERAS, A.; MORONI, P.; MILLER, R. H. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. **Small Ruminant Research**, v. 68, p.114-125, 2007.

PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam. v. 68, p. 88-113, 2007.

PEREIRA, Camila Serva et al. Mastite por contagem de células somáticas e isolamento bacteriano em cabras negativas para *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 38, n. 1, p. 99-104, 2016.

PEREIRA, N. M. **Avaliação de métodos de análises para determinação da contagem de células somáticas no leite cru, mantido em tanque de resfriamento**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2012.

PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, A. A. Enfermidades Infeciosas de Pequenos Ruminantes: Epidemiologia, Impactos Econômicos, Prevenção e Controle: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 1, p. 44-66, 2007.

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

ROSSI, R. S.; AMARANTE, A. F.; CORREIA, L. B. N.; GUERRA, S. T.; NOBREGA, D. B.; LATOSINSKI, G. S.; PANTOJA, J. C. F. Diagnostic accuracy of Somaticell, California Mastitis Test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections. **Journal of dairy science**, 101(11), 10220-10229, 2018.

SAMPAIO, B.; SAMPAIO, Y.; LIMA, R. A Economia da Caprinocultura em Pernambuco: Problemas e Perspectivas. **Revista de Economia**, v. 35, n. 2 (ano 33), p.137- 159, maio/ago. 2009. Editora UFPR. Disponível em:<<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/economia/article/view/17207/11341>> Acesso em: 24 de fevereiro de 2019.

SANTOS, B. M.; OLIVEIRA, M. E. G.; SOUSA, Y. R. F.; MADUREIRA, R. M. F. M.; PINTADO, M. M. E.; GOMES, A. M. P.; SOUZA, E. L.; QUEIROGA, R. C. R. E. Caracterização físico-química e sensorial de queijo de coalho produzido com mistura de leite de cabra e de leite de vaca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 70, n. 3, p. 302-310, 2011.

SANTOS, D. S., LIMA, M. G. B., NOZNICA, C. F., LIMA, D. M., BATISTA, C. F., GOMES, R. C., DELLA LIBERA, A. M. M. P. Conformação de úbere de caprinos da raça saanen: parâmetros estéticos ou funcionais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 5, p. 1287-1294, 2015.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade de Leite**. Pirassununga: Ed. Manole, 2007. 314 p.

SANZ SAMPELAYO, M.R.; CHILLIARD, Y.; SCHMIDELY, P.H.; BOZA, J. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v.68, p.42-63, 2007.

SILVA, M. G. C. M.; DINIZ, C. R.; ROSADO, A. C. **Criação racional de caprinos**. Lavras: Ed. UFLA, 2015.

SILVEIRA, T. M. L. Comparação entre o método de referência e a análise eletrônica na determinação da contagem de células somáticas do leite bovino Comparison between standard method and electronic analyses for measurement of the bovine milk somatic cell count. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p. 128-132, 2005.

SOUZA, G.; FARIA, C.; MORAES, L.C.D.; RUBIALE, L. **Contagem de células somáticas (CCS) em leite de cabra**. Panorama Leite, v.2, 2007.

VIANA, R B.; CARDOSO, E. C.; GOUVEIA, I. M.; REZENDE, M. L. G.; MONTEIRO, B. M. Avaliação da eficiência do Somaticell® para o diagnóstico da contagem indireta de células somáticas no leite de búfalas. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 53, n. 1, p. 24-30, 2010.

ZENG, S. S.; ESCOBAR, E. N.; HART, S. P.; HINCKLEY, L.; BAULTHAUS, M.; ROBINSON, G. T.; JAHNKE, G. Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 31, p. 103-107, 1999.