

## EFEITO DO ESTÁGIO DE LACTAÇÃO E DA ORDEM DE PARTO SOBRE O CONTEÚDO CELULAR DO LEITE DE CABRAS MISTIÇAS

Effect of stage of lactation and parity order on the milk cell content in crossbreed goats

*Elizabete Rodrigues da Silva<sup>1</sup>, Adriana Mello de Araújo<sup>2</sup>,  
Raymundo Rizaldo Pinheiro<sup>3</sup>, Francisco Selmo F. Alves<sup>3</sup>*

### RESUMO

Os efeitos do estágio de lactação e da ordem de parto sobre o conteúdo de células somáticas foram estudados através do California Mastitis Test (CMT) e da Contagem de Células Somáticas (CCS). Durante sete meses foram feitas coletas quinzenais de leite em 143 cabras mestiças pertencentes ao rebanho leiteiro da Embrapa Caprinos e apenas as amostras negativas ao exame bacteriológico foram submetidas à CCS. Observou-se efeito significativo ( $P < 0,05$ ) do estágio de lactação e da ordem de parto sobre a CCS e o CMT. A média da contagem de células somáticas para toda a lactação foi de  $820 \times 10^3$  céls/mL, enquanto que a média para o CMT foi de 1,0 (reação traços). Os resultados demonstraram que os fatores fisiológicos analisados neste estudo interferem no conteúdo celular da glândula mamária de cabras e devem ser levados em consideração no momento da interpretação dos testes diagnósticos da mastite subclínica nesta espécie animal.

**Palavras-chave:** Mastite caprina, mastite subclínica, diagnóstico.

### ABSTRACT

Effect of stage of lactation and parity order on the somatic cell content was studied in 143 female crossbreed goat using California Mastitis Test (CMT) and Somatic Cell Count (SCC). Milk samples were collected every 15 days during seven months and only samples bacteriologically negative were

submitted to a SCC. It was observed a significant effect ( $P < 0,05$ ) on SCC and CMT. The SCC mean to all the lactation period was  $820 \times 10^3$  cells/mL, while that the CMT was 1.0 (reaction traces). The oscillation means values from cell count observed in this study proved that physiological factors interfere in cell content of the udder. So, we can suggest that during the interpretation of these tests it is necessary to evaluate the factors involved at the moment.

**Keywords:** Goat mastitis, subclinical mastitis, diagnosis.

### INTRODUÇÃO

O termo "células somáticas" refere-se ao conteúdo de leucócitos, principalmente linfócitos, macrófagos e neutrófilos, e células epiteliais presentes no leite. Estas células atuam como um dos principais mecanismos de defesa da glândula mamária contra a invasão e a proliferação de agentes potencialmente causadores de mastite, existindo, assim, uma correlação entre o número destas células e a presença de infecção intramamária. Desse modo, a determinação do número de células somáticas constitui-se em um excelente indicador do estado sanitário da glândula mamária e, conseqüentemente, da qualidade do leite (HAENLEIN; HINCKLEY, 1996). Em caprinos, há controvérsias quanto ao uso dos métodos de enumeração das células somáticas uma vez que existem indicações de que diversos fatores interferem no conteúdo celular do leite desta espécie, além da presença de

<sup>1</sup> Médica Veterinária. Doutoranda. Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. **Autor para correspondência.** Embrapa Caprinos, Estrada Sobral-Groairas, km 04, Caixa Postal 10, CEP.: 62011-970, Sobral, Ceará. e-mail: beteers@hotmail.com

<sup>2</sup> Zootecnista. Doutoranda. Universidade Federal de Viçosa.

<sup>3</sup> Médico Veterinário. Pesquisador. Doutor. Embrapa Caprinos.

infecção intramamária. Em rebanho caprino é comum encontrar um grande percentual de amostras de leite negativas ao exame bacteriológico com contagens de células somáticas superiores a  $1.000 \times 10^3$  céls/mL e reação positiva ao California Mastitis Test (LIMA JUNIOR et al., 1994; WILSON et al., 1995).

Diversos estudos têm encontrado contagens celulares elevadas nos diferentes estágios de lactação, tanto em glândulas isentas de infecção quanto naquelas infectadas, sendo os maiores valores determinados no período final da lactação (WILSON et al., 1995; ZENG; ESCOBAR, 1996; SILVA et al., 1999). A idade, traduzida em número de partos, também tem sido apontada como fator que altera o conteúdo celular do leite, encontrando-se as menores contagens em animais de primeira e segunda parição (ROTA et al., 1993; WILSON et al., 1995; SILVA et al., 1999). A ausência de lesões no tecido glandular, cujo leite apresenta altas contagens de células somáticas, também sugere que outros fatores afetam de forma significativa o conteúdo celular do leite de cabras (ZENG; ESCOBAR, 1996).

Desse modo, este trabalho objetivou verificar o efeito do estágio de lactação e da ordem de parto sobre o conteúdo celular do leite de cabras mestiças e determinar valores para a Contagem de Células Somáticas e escores para o California Mastitis Test, nos diferentes períodos de lactação estudados.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 143 cabras mestiças,  $\frac{1}{2}$  Parda Alpina x Moxotó ( $n = 90$ ),  $\frac{3}{4}$  Parda Alpina x Moxotó ( $n = 21$ ) e  $\frac{1}{4}$  Parda Alpina x  $\frac{1}{4}$  Moxotó x  $\frac{1}{2}$  Anglo-nubiana ( $n = 32$ ), pertencentes ao Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos – Embrapa Caprinos, localizado na zona fisiográfica do Sertão cearense, no município de Sobral. Os animais foram mantidos em regime semi-intensivo durante todo o ano (pastagem nativa) e submetidos a duas ordenhas manuais diárias até os 150 dias de lactação e, a partir do 151º dia, a apenas uma ordenha diária, com uma produção média de leite de 1,5 kg/dia em todo o período de lactação. Todas as fêmeas foram submetidas à higienização do úbere, pré e pós-ordenha, com solução iodada a 0,5%. Todos os animais eram soro negativos para a Artrite Encefalite Caprina a Vírus (CAEV), através do teste de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA).

As colheitas de leite foram realizadas na ordenha matinal, fazendo-se acompanhamentos quinzenais, a partir da segunda semana após o parto,

durante um período de sete meses. Imediatamente após a higienização do úbere e após desprezar os primeiros jatos de leite, realizou-se o California Mastitis Test – CMT (SCHALM; NOORLANDER, 1957) em todas as fêmeas e, ao final da ordenha, procedia-se a colheita individual de amostras de leite para serem submetidas ao exame bacteriológico e à Contagem de Células Somáticas (CCS). A cultura bacteriológica foi realizada segundo recomendações do National Mastitis Council (MICROBIOLOGICAL..., 1990), sendo que as amostras que apresentaram crescimento bacteriano foram desprezadas, não sendo consideradas as reações do CMT das mesmas. Nas amostras em que não houve crescimento bacteriano por duas culturas consecutivas, anotou-se número e data correspondentes, procedendo-se a CCS segundo a metodologia descrita por Prescott e Breed (1910), utilizando-se o método de Paape et al. (1963) para a coloração dos esfregaços lácteos.

Os dados foram agrupados de acordo com o estágio de lactação, levando-se em consideração a curva de lactação sugerida por Santos et al. (1984). Desse modo, os dados foram alocados em três categorias, denominadas de: estágio de lactação 1 (EL1) – animais com 0-60 dias pós-parto; estágio de lactação 2 (EL2) – animais com 61-100 dias pós-parto e estágio de lactação 3 (EL3) – animais a partir dos 101 dias pós-parto. Os dados também foram classificados de acordo com a ordem de parto dos animais: primeira (OP1), segunda (OP2), terceira (OP3) e quarta ou mais partições (OP<sup>34</sup>).

Valores aritméticos foram atribuídos às reações do CMT: valor 0 (zero) para a reação negativo, valor 1 para a reação traços, valor 2 para a reação 1+, valor 3 para a reação 2+ e valor 4 para a reação 3+ (FTHENAKIS, 1995). As médias destes valores sofreram transformação em raiz quadrada. Os valores da CCS foram transformados em logaritmo natural para a análise. Utilizou-se o procedimento para dados não balanceados, General Linear Models (GLM), para estudar o efeito do estágio de lactação e da ordem de parto sobre a CCS e CMT. As análises das variâncias foram realizadas através do teste F. O teste de diferença mínima significativa (Least Significance Difference) foi empregado para verificar a existência de diferença entre as médias ajustadas. Todos os testes foram processados pelo Statistics Analysis System (SAS, 1990).

## RESULTADOS

A média da CCS, em todo o período da

lactação, foi de  $820 \times 10^3$  céls/mL. No EL1, a média observada foi de  $860 \times 10^3$  céls/mL de leite e nos EL2 e EL3 foram encontradas médias de 500 e  $1.230 \times 10^3$  céls/mL, respectivamente. A média dos escores do CMT para toda a lactação foi de 1,0 (reação traços). Nos EL1 e EL2 as médias encontradas foram de 0,5 e 0,6 (reação negativo), nesta ordem, enquanto no EL3 a média foi de 1,6 (reação traços).

Na Tabela 1 são mostradas as médias dos

quadrados mínimos e erros padrão da CCS e CMT, em função do estágio de lactação. Houve um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) da CCS do EL2 para o EL3, não se observando, no entanto, diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre o EL1 e EL3. O CMT foi afetado significativamente ( $P < 0,05$ ) pelo estágio de lactação, observando-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os valores dos EL1 e EL2 com EL3, o qual mostrou a maior média dos escores do CMT.

Tabela 1. Médias dos quadrados mínimos e erros padrão para a CCS ( $\times 10^3$  céls/mL) e CMT, por estágio de lactação.

Estágio de Lactação	CCS	CMT
	X $\pm$ S	X $\pm$ S
1	860 $\pm$ 1,27ab	0,5 $\pm$ 0,01a
2	500 $\pm$ 1,23a	0,6 $\pm$ 0,01a
3	1.230 $\pm$ 1,20b	1,6 $\pm$ 0,04b

a, b Médias com a mesma letra não são diferentes significativamente ( $P > 0,05$ ).

As médias e erros padrão da CCS e CMT, por ordem de parto, são descritos na Tabela 2. Apesar dos maiores valores de células somáticas para a OP4 ( $1.140 \times 10^3$  céls/mL), não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre a média desta ordem e as da OP1 ( $980 \times 10^3$  céls/mL) e OP3 ( $790 \times 10^3$  céls/mL). A OP2 mostrou a menor média de contagem celular ( $470 \times 10^3$  céls/mL), sendo diferente ( $P < 0,05$ )

das médias da OP1 e OP4, e igual ( $P > 0,05$ ) à média da OP3. Observou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as médias do CMT da OP4 (1,1) com as médias das OP2 (0,8) e OP3 (0,8), não havendo, entretanto, diferença ( $P > 0,05$ ) entre as médias da OP1 (0,9) e OP4. As médias das OP1, OP2 e OP3 mostraram-se iguais entre si ( $P > 0,05$ ).

Tabela 2. Médias dos quadrados mínimos e erros padrão para a CCS ( $\times 10^3$  céls/mL) e CMT, por ordem de parto.

Ordem de Parto	CCS	CMT
	X $\pm$ S	X $\pm$ S
1	980 $\pm$ 1,28b	0,9 $\pm$ 0,01ab
2	470 $\pm$ 1,27a	0,8 $\pm$ 0,01a
3	790 $\pm$ 1,34ab	0,8 $\pm$ 0,01a
$\geq 4$	1.140 $\pm$ 1,30b	1,1 $\pm$ 0,01b

a, b Médias com a mesma letra não são diferentes significativamente ( $P > 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A presença das células somáticas na glândula mamária é fundamental para que o animal possa estabelecer uma proteção efetiva contra microrganismos causadores de mastite. Desta forma, os testes que quantificam estas células são considerados viáveis para monitorar a saúde do

úbere e, conseqüentemente, a qualidade do leite. No entanto, em caprinos, a quantidade dos diferentes tipos de células somáticas é afetada de forma significativa por fatores ambientais e fisiológicos o que dificulta a interpretação dos testes de enumeração destas células no leite desta espécie animal (SILVA et al., 1999; PAAPE, 2000). Semelhante aos resultados deste trabalho, Wilson et al. (1995)

observaram que a CCS aumentava à medida que a lactação avançava, tanto em animais com infecção intramamária quanto em animais isentos de infecção. Zeng e Escobar (1996), por sua vez, relataram que durante os últimos três meses de lactação, 71% das amostras de leite estudadas demonstraram aumento da CCS. De acordo com Manlongat et al. (1998), o aumento das células somáticas no final da lactação está relacionado a uma maior atividade quimiotática durante este período, tanto para os leucócitos polimorfonucleares quanto para os mononucleares, o que seria um processo fisiológico para fornecer uma maior defesa à glândula mamária nas primeiras semanas do período seco e eliminar debris celulares e resíduos de leite presentes no úbere em involução. Uma outra possível causa da maior quantidade de células somáticas no final da lactação seria a descamação do epitélio secretor que ocorre com maior intensidade no final da lactação, sendo este efeito mais significativo em caprinos devido ao processo de secreção láctea desta espécie.

Neste estudo, os valores do CMT também foram afetados pelo estágio de lactação. O maior afluxo de leucócitos observado por Manlongat et al. (1998) e o maior número de células epiteliais durante o período final da lactação são, provavelmente, os responsáveis por este efeito. Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram descritos por Silva et al. (1997) trabalhando com leite de cabras puras.

A ausência de diferença estatisticamente significativa entre as médias da CCS e CMT dos estágios de lactação 1 e 2 ocorreu, provavelmente, devido ao fato de que no EL1 não foram incluídas amostras do período colostrar o qual, por apresentar uma elevação fisiológica do número de leucócitos mononucleares, aumenta a contagem de células somáticas neste período da lactação.

A média observada para a CCS no período final da lactação ultrapassa o valor máximo de  $1.000 \times 10^3$  céls/mL estabelecido como limite entre o fisiológico e o patológico por Kalogridou-vassiliadou et al. (1992), no entanto, está abaixo de  $2.000 \times 10^3$  céls/mL proposto por Rota et al. (1994) como o valor máximo de células admissíveis fisiologicamente no leite caprino. Nos Estados Unidos, Zeng e Escobar (1996) observaram que no final da lactação a CCS excedia o limite de  $1.000 \times 10^3$  céls/mL, estabelecido como o máximo de células permitido para a comercialização do leite de cabras naquele país. Estes resultados demonstram que os valores da CCS do leite de cabras devem ser interpretados com cautela e o estágio de lactação dos animais deve ser levado em consideração.

As médias do CMT, encontradas neste trabalho, indicam que as reações negativo e traços podem ser consideradas bons indicadores da ausência de infecção intramamária, uma vez que tais amostras também foram negativas ao exame bacteriológico. Estes resultados corroboram com os achados de Perrin et al. (1997), os quais concluíram que as reações negativas são mais eficazes para prever a saúde da glândula mamária caprina do que as reações positivas.

Neste trabalho, apenas a média da CCS dos animais de segunda parição mostrou diferença significativa quando comparada com a média dos animais de quarta ou mais parições, os quais apresentaram contagens superiores a  $1.000 \times 10^3$  céls/mL. Silva et al. (1999) verificaram aumento significativo da CCS em animais com maior número de parições, encontrando-se valores superiores a  $2.000 \times 10^3$  céls/mL neste grupo de animais. Segundo Wilson et al. (1995) o maior número de células somáticas no leite dos animais mais velhos seria devido a menor produção de leite destes animais. Para Rota et al. (1993), no entanto, a maior CCS em animais com múltiplas parições sugere uma maior susceptibilidade da glândula mamária às infecções. Neste estudo, entretanto, a maior CCS observada nos animais de quatro ou mais parições poderá ser devida a menor produção de leite desses animais e não a uma maior susceptibilidade à infecção intramamária, uma vez que as amostras de leite trabalhadas foram negativas ao exame bacteriológico confirmando, assim, a saúde da glândula mamária. Por outro lado, o efeito da ordem de parto, encontrado neste e em outros estudos, poderá ser apenas o reflexo de uma resposta fisiológica normal ao contato freqüente com microrganismos, o que determina um maior número de polimorfonucleares na glândula mamária e, conseqüentemente, aumento do número total de células no leite de animais mais velhos.

Além dos fatores estudados neste trabalho e apontados por determinar alterações no conteúdo celular do leite caprino, outros já foram identificados, tais como, a presença de estro, estresse, infecção pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) e ingestão excessiva de grãos (LERONDELLE et al., 1992; SMITH; SHERMAN, 1994). Com relação a estes dois últimos fatores, embora, não tenham sido investigados neste estudo, os mesmos não interferiram com os valores determinados para a CCS e CMT, visto que os animais amostrados eram soro negativos para o CAEV e não receberam grãos em seu arraçoamento diário.

## CONCLUSÃO

Nas condições em que foi desenvolvido este trabalho, observou-se influência do estágio de lactação e da ordem de parto sobre o conteúdo de células somáticas do leite de cabras mestiças. Desse modo, recomenda-se que estes fatores sejam levados em consideração ao avaliar a saúde da glândula mamária caprina através do California Mastitis Test e da Contagem de Células Somáticas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FTHENAKIS, G.C. California Mastitis Test and Whiteside Test in diagnosis of subclinical mastitis of dairy ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 16, n. 3, p. 271-276, 1995.
- HAENLEIN, G.F.W., HINCKLEY, L.S. Goat milk somatic cell counts in the USA. **Dairy Goat Journal**, Upper Darby, v. 74, n. 4, p. 148-149, 1996.
- KALOGRIDOU-VASSILIADOU, D., MANOLKIDIS, K., TSIGOIDA, A. Somatic cell counts in relation to infection status of the goat udder. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 59, n. 1, p. 21-28, 1992.
- LERONDELLE, C., RICHARD, Y., ISSARTIAL, J. Factors affecting somatic cell counts in goat milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 8, n. 1-2, p. 129-139, 1992.
- LIMA JÚNIOR, A.D., VIANNI, M.C.E., NADER FILHO, A. Estudo comparativo entre algumas características físico-químicas, celulares e bacteriológicas do leite de cabras reagentes e negativas ao California Mastitis Test. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 46, n. 3, p. 290-300, 1994.
- MANLONGAT, N., YANG, T.J., HINCKLEY, L.S., BENDEL, R.B., KRIDER, H.M. Physiologic-chemoattractant-induced migration of polymorphonuclear leucocytes in milk. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 5, n. 3, p. 375-381, 1998.
- MICROBIOLOGICAL procedures for the diagnosis of bovine udder infection. 3. ed. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34p.
- PAAPE, M.J. Situation regarding the legal limit for somatic cell counts for goats in the United States. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 7, Tours, 2000. **Proceedings...** Tours: IGA, 2000. p. 755-756.
- PAAPE, M.J., HAFS, H.D., SNYDER, W.W. Variation of estimated numbers of milk somatic cells stained with Wright's stain or pyronina y-methyl green stain. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 46, n. 11, p. 1211-1216, 1963.
- PERRIN, G.G., MALLEREAU, M.P., LENFANT, D., BAUDRY, C. Relationships between California Mastitis Test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 26, n. 1-2, p. 167-170, 1997.
- PRESCOTT, S.C., BREED, R.S. The determination of the number of body cells in milk by a direct method. **Journal Infections Diseases**, v. 7, n. 632, p. 632-640, 1910.
- ROTA, A.M., GONZALO, C., RODRIGUEZ, P.L., ROJAS, A.I., MARTÍN, L., TOVAR, J.J. Effects of stage of lactation and parity on somatic cell counts in milk of Verata goats and algebraic models of their lactation curves. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 12, n. 2, p. 211-219, 1993.
- ROTA, A.M., ROJAS, A., MARTÍN, L., RODRÍGUEZ, P., TOVAR, J.J. Uso de la prueba de California para la detección de mamitis en el ganado caprino. **Avances en Alimentacion y Mejora Animal**, Madrid, v. 2, n. 34, p. 67-69, 1994.
- SAS Institute Inc. **SAS user's guide: statistics**. Cary: SAS Institute, 1990. 1290p.
- SANTOS, L.E., RODA, D.S., SANCHEZ, M.J.F., GARCIA, W. Estudo da curva de lactação de cabras das raças Anglo-nubiana e Moxotó. **Zootecnia**, Cordoba, v. 22, n. 2, p. 133-151, 1984.
- 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. 199-207, 1957.
- SILVA, E.R., ARAÚJO, A.M., ALVES, F.S.F., PINHEIRO, R.R., SAUKAS, T.N. Fatores que interferem no conteúdo celular do leite de cabra. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n. 1, p. 67-69, 1999.

SILVA, E.R. **Estudo de algumas fontes de variação do conteúdo celular do leite de cabra.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1997. 65p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária).

SMITH, M.C., SHERMAN, D.M. **Goat Medicine.** Pennsylvania: Lea & Febiger, 1994. Cap. 14: Mammary gland and milk production, p. 465-494.

WILSON, D.J., STEWART, K.N., SEARS, P.N. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 16, n. 2, p.165-169, 1995.

ZENG, S.S., ESCOBAR, E.N. Effect of breed and milking method on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p. 169-175, 1996.