

ANO XXXIV - N.º 2



BOLETIM PECUÁRIO

1966

COMPARAÇÃO ENTRE UM MÉTODO RÁPIDO
PARA DIAGNÓSTICO DA MAMITE («MASTEST»)
E A CONTAGEM CELULAR NO LEITE

Por

FERNANDO ARNALDO ESTEVES
MÁRIO DIAS PATINHO
LIA FREIRE E SILVA

I

INTRODUÇÃO

Foi em tempos solicitada a colaboração do Serviço de Lactologia do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, no sentido de se proceder ao ensaio laboratorial do método «*Mastest*» destinado ao diagnóstico rápido, no estábulo, da mamite dos bovinos leiteiros.

Para o efeito foi fornecido um frasco com um reagente corado e uma «*raquete*» com quatro taças individualizadas.

Segundo informação fornecida pela sociedade importadora, o reagente tem a seguinte composição:

- Teepol 415 — solução aquosa a 20 %.
- Bromocresol purpura — solução aquosa a 4 %.

De acordo com a literatura que acompanhava o produto para estudo, a intensidade dos casos de mamite grassando num efectivo pode ser ajuizada pela intensidade das reacções obtidas com a prova. Tendo em consideração que o leite de quartos atacados de mamite apresenta o número de células bastante aumentado, verifica-se, através dos resultados obtidos por este método de análise, que, se adicionarmos o reagente a leite nestas condições, se observará a formação de um gel mais ou menos consistente, por reacção com as proteínas celulares. A observação deste fenómeno é facilitada devido ao contraste conferido pelo corante incorporado no reagente.

Do exposto se deduz que se trata, ao fim e ao cabo, da chamada «*Prova Californiana da Mamite*» que deve o seu nome a ter sido pela primeira vez aplicada no estado americano da Califórnia.

Realizadas que foram as provas consideradas necessárias para o ensaio acima citado, resolveram os autores prosseguir com mais exames a fim de estabelecerem possível paralelismo entre as reacções da prova e as descargas celulares do leite utilizado.

Segundo SCHALM e NOORLANDER (1) foi verificado que na «prova de Whiteside» (na qual se utiliza uma solução de OHNa) há uma provada interferência da gordura do leite.

Para evitar este inconveniente, estudou-se a utilização de detergentes que actuam por intermédio dos sais de sódio ou de potássio existentes na sua composição. A esses detergentes associaram-se, em regra, corantes, com a dupla finalidade de facilitarem a leitura dos resultados e ainda de servirem de indicadores de pH. Deste modo, nasceu a «Prova Californiana da Mamite».

Segundo ainda os mesmos autores, o reagente ruptura as células, as quais são desdobradas por quebra de ligações e as moléculas resultantes unem-se com o reagente, formando um precipitado ou gel.

A maior parte dos leites mamíticos têm um pH neutro ou ligeiramente alcalino o que favorece a prova.

Há que ter em atenção que a prova não é específica das descargas celulares de origem mamítica. Leites do princípio e do fim da lactação podem apresentar um aumento de descargas celulares, assim como as erradas práticas de ordenha, através de traumatismos, podem ter o mesmo efeito e, portanto, ocasionarem reacções positivas.

II

MATERIAL E MÉTODOS

Segundo as instruções que acompanhavam o material para estudo, a prova a realizar no estábulo, deve executar-se do modo seguinte:

- 1 — De cada quarto do úbere colher para cada taça da «raquete», um jacto de leite equivalente, aproximadamente ao volume contido numa colher de chá (3 cm^3) (Fig. 1).



FIG. 1

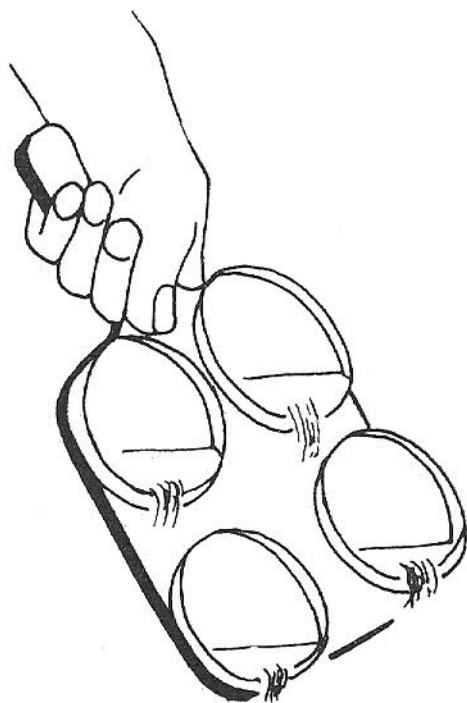


FIG. 2

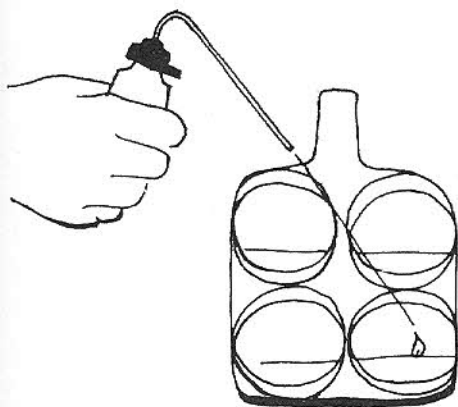


FIG. 3

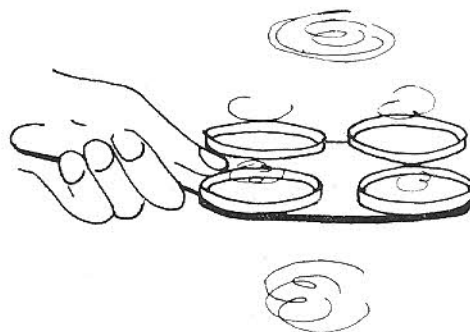


FIG. 4

- 2 — Acertar, se necessário, os volumes de leite contidos nas quatro taças, inclinando a «raquete» a mais ou menos 45° (Fig. 2).
- 3 — Deitar um jacto do reagente corado em cada taça (cerca de 1,5 cm³) (Fig. 3).
- 4 — Agitar rapidamente a «raquete» com movimentos circulares, se necessário 10 vezes, de modo a misturar o leite e o reagente. Proceder imediatamente à leitura (Fig. 4).

Para a realização do trabalho obtivemos, por intermédio da 5.^a Repartição da D. G. S. P., amostras de leites suspeitos de mamite.

Em cada amostra, além da prova com o reagente «*Mastest*» executada segundo o esquema acima exposto, procedeu-se à contagem celular pelo método de *Breed*, utilizando a seguinte técnica de coloração de esfregaços, descrita por ANDERSEN (2):

- Desengordurar com a solução (a) durante 1 a 2 minutos.
- Deixar escorrer durante 1 minuto.
- Corar pela solução (b) durante 1 minuto.
- Lavar e secar.

Solução (a) — Solvente do corante e da gordura do leite:

- Clorofórmio — 650 cm³.
- Álcool metílico anidro — 320 cm³.
- Trietanolamina a 10 %, purificada — 30 cm³.

Misturar, invertendo, em frascos de 1.000 cm³ de capacidade.

Solução (b) — Corante:

- Azur A (dimetiltiamina) — 0,1 g.
- Solução (a) — 100 cm³.

Adicionar o corante ao solvente; agitar de quando em quando. O corante dissolve-se dentro de 10 minutos e não necessita de ser filtrado.

III

RESULTADOS

Procedendo-se para cada amostra do modo atrás descrito, obtiveram-se os resultados expressos no quadro II.

Na leitura dos resultados da prova «*Mastest*» utilizaram-se os seguintes símbolos:

- = Reacção negativa (não há mudança de consistência).
- T = Vestígios de viscosidade.
- 1 + = Ligeira formação de viscosidade.
- 2 + = Viscosidade aderente.
- 3 + = Viscosidade forte, muito aderente.

A equivalência com a contagem celular, segundo o folheto de instruções «*Mastest*» é a do quadro I.

QUADRO I

Intensidade da reacção	Contagens aproximadas de células por cm ³
—	Menos de 250.000
T	100.000 a 500.000
1 +	500.000 a 2.000.000
2 +	2.000.000 a 5.000.000
3 +	Mais de 5.000.000

Do exame do quadro I, verifica-se que existe uma marcada equivalência entre a intensidade das reacções obtidas com o reagente e o número de células contadas por cm³ de cada amostra de leite analisada.

JENSEN (3) é de opinião que as reacções só possam ser nítidas quando o número de células excede 500.000 por cm³.

O mesmo facto foi por nós observado.

Por outro lado, SCHALM (4) declara que a formação de um gel só é verificada com valores celulares superiores a 800.000 por cm³.

Ora, foi por nós observado que a presença de gel é, em regra, já nitida, com números de células superiores a 500.000 por cm³.

Analisando, mais pormenorizadamente, os resultados obtidos, nota-se que, de entre 105 amostras analisadas, apenas em 4 (n.ºs 8, 34, 36 e 104) o número de células se afasta de modo apreciável da norma constante no quadro I.

Em 10 amostras (n.ºs 3, 6, 18, 33, 35, 40, 67, 77, 84 e 99) o número de células afasta-se um pouco da citada norma.

Dado porém que os valores celulares expressos no quadro I são aproximados, as pequenas diferenças encontradas nessas 10 amostras não invalidam, a nosso ver, o rigor dos resultados.

IV

CONCLUSÃO

O método revelou-se eficaz, como prova rápida, para avaliar a intensidade das descargas celulares do úbere.

QUADRO II

Data	Número da Amostra	«Mastest» (mastitis diagnostic test)	N.º de células por ml (técnica de Breed)
22/10/64	1	2 +	3 377 920
»	2	2 +	2 663 360
»	3	—	259 840
»	4	—	194 880
30/10/64	5	T	291 320
»	6	T	582 640
»	7	—	129 920
»	8	—	97 440
»	9	1 +	519 680
»	10	1 +	779 520
»	11	3 +	5 651 520
»	12	3 +	1 688 960
6/11/64	13	—	97 440
»	14	—	129 920
»	15	1 +	779 520
»	16	1 +	714 560
»	17	2 +	2 078 720

QUADRO II (Continuação)

Data	Número da Amostra	«Mastest» (mastitis diagnostic test)	N.º de células por ml (técnica de Breed)
6/11/64	18	T	649 600
»	19	3 +	10 718 400
19/11/64	20	T	194 880
»	21	T	162 400
»	22	1 +	747 040
»	23	1 +	876 960
»	24	1 +	779 520
»	25	1 +	747 040
»	26	3 +	6 431 040
»	27	3 +	5 781 440
20/11/64	28	—	97 440
»	29	1 +	1 071 840
»	30	1 +	682 080
»	31	1 +	1 104 320
»	32	3 +	5 391 680
13/1/65	33	1 +	422 240
»	34	—	129 920
»	35	1 +	459 840
»	36	—	64 960
»	37	1 +	1 494 080
»	38	1 +	1 624 000
»	39	2 +	2 208 640
»	40	3 +	4 078 720
15/1/65	41	T	389 760
»	42	—	228 800
»	43	1 +	519 680
»	44	1 +	974 400
»	45	2 +	2 241 120
»	46	1 +	876 960
21/1/65	47	T	357 280
»	48	2 +	3 832 640
»	49	—	194 880
»	50	—	128 920
»	51	1 +	1 851 360
»	52	1 +	714 560
»	53	3 +	7 762 720
»	54	2 +	2 793 280
22/1/65	55	T	259 840
»	56	—	129 920
»	57	T	357 280
»	58	2 +	2 988 160
»	59	3 +	13 771 520
»	60	1 +	714 560
29/1/65	61	2 +	2 436 000

QUADRO II (Continuação)

Data	Número da Amostra	«Mastest» (mastitis diagnostic test)	N.º de células por ml (técnica de Breed)
29/1/65	62	—	162 400
»	63	—	194 880
»	64	1 +	909 440
»	65	2 +	3 183 040
»	66	2 +	3 410 400
»	67	—	292 320
»	68	T	779 520
4/2/65	69	—	97 440
»	70	2 +	3 800 160
»	71	2 +	3 800 160
»	72	2 +	4 709 600
»	73	—	162 406
»	74	1 +	1 656 480
»	75	T	617 120
11/3/65	76	—	194 880
»	77	T	519 680
»	78	T	292 320
»	79	T	258 840
»	80	1 +	1 071 840
»	81	1 +	754 040
»	82	2 +	2 143 680
»	83	3 +	5 554 880
17/3/65	84	T	422 240
»	85	—	162 400
»	86	2 +	3 053 120
»	87	1 +	1 461 600
»	88	1 +	747 040
»	89	1 +	1 266 720
25/3/65	90	T	194 880
»	91	T	357 280
»	92	T	194 880
»	93	T	357 280
»	94	2 +	3 962 560
»	95	3 +	7 925 120
»	96	1 +	1 136 800
»	97	1 +	747 040
26/3/65	98	1 +	812 000
»	99	T	649 600
»	100	T	389 760
»	101	2 +	2 728 320
»	102	1 +	649 600
»	103	1 +	714 660
»	104	3 +	3 248 000
»	105	1 +	1 364 160

Maio de 1965

