

AVALIAÇÃO DE TESTES RÁPIDOS PARA ANÁLISES DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LEITE CRU DE TANQUES

[Evaluate of rapid test for analysis of somatic cell count of bulk tank milk]

Viviane Maia de Araújo*¹, Adriano Henrique do Nascimento Rangel², Karla Cavalcanti Bezerra³, Kivya Dias de Andrade⁴, Mirela Gurgel Guerra⁵

¹Zootecnista, M.Sc., bolsista DTI-2 do CNPq, Natal, RN.

²Prof. Adjunto da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Natal, RN¹

³Zootecnista, bolsista EXP do CNPq, Natal, RN.

⁴Graduanda do curso de zootecnia, UFRN, Natal, RN.

⁵Mestranda em produção Animal, UFRN, Natal, RN.

RESUMO: Objetivou-se analisar a confiabilidade de testes alternativos para detecção da mastite subclínica em leite cru de tanques de resfriamento. No período de janeiro a maio de 2011, foram coletadas mensalmente amostras de leite cru de tanques de resfriamento em dez propriedades localizadas na região agreste no Estado do Rio Grande do Norte. As análises de contagem de células somáticas (CCS) foram obtidas pelo Somaticell[®], DeLaval Cell Count[®] (DCC) e pela contagem eletrônica de células somáticas por citometria de fluxo, sendo esta última usada como metodologia padrão. Foram calculadas a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos dos testes Somaticell[®] e DCC[®]. Que apresentou valores de 70%, 77%, 46%, 90% e 86%, 82%, 50%, 96%, respectivamente. Verificou-se ainda, o coeficiente Kappa para análise de concordância entre os testes, em que, $k=0,40$ para o Somaticell[®] e $k=0,52$ para o DCC[®]. Os testes apresentaram resultados satisfatórios como metodologia alternativa para determinação da CCS em leite cru de tanques de resfriamento.

Palavras-chave: leite bovino, mastite subclínica, qualidade do leite.

ABSTRACT: The objective was to evaluate the reliability of alternative tests for detection of subclinical mastitis on bulk tank milk. In the period from January to may 2011, monthly samples were collected from bulk tank milk in ten properties located in the region agreste in the state of Rio Grande do Norte. Analyses of somatic cell count (SCC) were obtained by Somaticell[®], DeLaval Cell Count[®] (DCC) and the electronic counting of somatic cells by flow cytometry, the latter being used as standard methodology. We calculated the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the tests Somaticell[®] and DCC[®]. That showed values of 70%, 77%, 46%, 90% and 86%, 82%, 50%, 96%, respectively. It was also the Kappa coefficient for agreement analysis between tests, in which, $k = 0.40$ for Somaticell[®] and $k = 0.52$ for DCC[®]. The tests showed satisfactory results as an alternative methodology for determination of SCC in bulk tank milk.

Keywords: cow milk, no clinical mastitis, milk quality.

*Autor para correspondência: vivi.maia@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A mastite continua sendo um dos principais problemas para a pecuária leiteira, tendo em vista os graves prejuízos acarretados, quer seja pela diminuição da produção, uso de medicamentos ou até mesmo descarte dos animais, o que demonstra a importância na prevenção e controle da doença (Ruegg, 2003).

A contagem de células somáticas (CCS) é a principal característica utilizada para o diagnóstico da mastite subclínica e tem sido usada como uma importante ferramenta para o monitoramento da qualidade do leite e da saúde da glândula mamária. Na forma subclínica não existem sinais evidentes da doença, portanto, se faz necessária a utilização de testes auxiliares (Santos & Fonseca, 2007). No mercado há uma variedade de testes rápidos disponíveis para detecção da mastite, os quais são de baixo custo e o fornecimento da informação auxilia na tomada de decisões mais rapidamente, quando comparado às análises realizadas em laboratório, no entanto, a precisão dos resultados deve ser avaliada devido à subjetividade desses testes.

O Somaticell[®] é um teste qualitativo em essência, mas apresenta uma conversão para valores quantitativos, oferece um limite de resultados entre 69.000 a 1.970.000 céls./mL. Já o equipamento DeLaval Cell Count[®] (DCC) é um teste direto portátil constituído por um leitor óptico de células e faz a leitura das células coradas em uma placa acrílica descartável, possui uma faixa de resultado de 10.000 a 4.000.000 céls./mL (Rodrigues et al. 2009).

Para o correto uso dos métodos diagnósticos alternativos e interpretação dos resultados confiáveis é importante que se conheça algumas de suas características, como a sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo e a eficiência (Santos & Fonseca, 2007). Para isso, deve-se estabelecer um “padrão ouro”, que por definição é um teste padrão que serve de comparação por parte de outros testes, com a finalidade de avaliar a exatidão dos mesmos, em resultados que nos assegurem o máximo de acertos de forma a estabelecer o diagnóstico real (Gordis, 2004).

A sensibilidade mede a capacidade do teste em identificar corretamente a doença entre aquelas amostras que a possuem, ou seja, o quão sensível é o teste. A especificidade mede a capacidade do

teste em excluir corretamente aqueles que não possuem a doença. Já os valores preditivos, indicam a probabilidade de um resultado positivo (ou negativo) corresponder a uma amostra com a mastite (ou sem mastite) (Brito et al., 2003).

Considerando os aspectos mencionados objetivou-se analisar a confiabilidade dos testes Somaticell[®] e DeLaval Cell Count[®] para detecção da mastite subclínica em leite cru de tanques de resfriamento.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro a maio de 2011, foram coletadas mensalmente amostras de leite cru de tanques de resfriamento em dez propriedades localizadas na região agreste no Estado do Rio Grande do Norte. Em cada propriedade foram coletadas 08 amostras em frascos com 40mL de capacidade, sendo em quatro delas sem adição de conservante, para análises concomitante no Somaticell[®] e DeLaval Cell Count[®] (DCC), e nas outras quatro foram acrescentadas o conservante bronopol[®] e em seguida encaminhadas para o laboratório da Clínica do Leite (ESALQ/USP) para análise da contagem eletrônica de células somáticas por citometria de fluxo (IDF,1995). O procedimento de coleta foi realizado segundo recomendações do laboratório.

A CCS eletrônica foi usada como padrão ouro para definir a presença da mastite subclínica utilizando um ponto de corte de 750 mil céls./mL, conforme limite máximo estabelecido até 31.12.2012 para as regiões Norte e Norte pela Instrução Normativa N°62 (Brasil, 2011). A partir desse padrão foram calculadas a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e valores preditivos negativos dos testes Somaticell[®] e DCC[®] (Figura 1).

O coeficiente Kappa foi verificado para análise de concordância entre os testes, em que, Kappa>0,8 (concordância quase perfeita); Kappa=0,61 a 0,80 (concordância substancial); Kappa=0,41 a 0,60 (concordância moderada); Kappa=0,21 a 0,40 (concordância razoável); Kappa<0,20 (concordância fraca) (Medeiros et al. 2008).

		Mastite (confirmada por um padrão ouro)		
		Presente	Ausente	
Teste alternativo	Positivo	Verdadeiro Positivo VP	Falso Positivo FP	Valor Preditivo Positivo VP/(VP+FP)
	Negativo	Falso Negativo FN	Verdadeiro Negativo VP	Valor Preditivo Negativo VN/(VN+FN)
		Sensibilidade VP/(VP+FN)	Especificidade VN/(VN+FP)	

Figura 1. Adaptado de Rodrigues, 2008

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores percentuais para sensibilidade e especificidade indicam uma boa acurácia para os testes alternativos na determinação da CCS (Tabela 1). O teste Somaticell[®] apresentou valores mais baixos que o DCC[®] (Tabela 1), e isso pode estar associado ao fato de ser um teste qualitativo, no entanto, mais subjetivo e dependente da interpretação de quem o executa.

Esses valores foram mais baixos que os reportados por Rodrigues (2008), em que demonstraram percentuais de 91,3% e 96,0% para sensibilidade e especificidade, do mesmo teste Somaticell[®] em relação à CCS eletrônica.

Já os valores preditivos positivos (VPP), para ambos os testes indicam baixos valores de probabilidade (Tabela 1) de um resultado positivo corresponder a uma amostra com a CCS acima de 750 mil céls./mL. Ou seja, o baixo VPP indica elevado número de resultados falsos positivos (Ndegwa et al., 2000). O que pode ser justificado

pela seletividade das propriedades, uma vez que poucas amostras estiveram acima do padrão ouro para CCS. O mesmo pode ser justificado para os valores preditivos negativos (VPN), uma vez que ambos os testes apresentaram valores de probabilidade elevados (Tabela 1), indicando que resultados negativos realmente correspondem a amostras com CCS abaixo de 750 mil céls./mL.

O coeficiente Kappa apresentou concordância razoável para o teste Somaticell[®] e concordância moderada para o teste DCC[®] (Tabela 1). Demonstrando valores intermediários do coeficiente Kappa para ambos os testes. Existem trabalhos em que a concordância é quase perfeita, apresentando um coeficiente Kappa superior a 0,82, tanto para o teste Somaticell[®] (Rodrigues, 2008), quanto para o teste DCC[®] (Ruegg et al., 2005) em relação a CCS eletrônica. Isso demonstra que ambos são métodos aplicáveis para determinação da CCS.

Tabela 1- Valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e coeficiente Kappa entre os testes Somaticell[®], DeLaval Cell Count[®] para diagnóstico dos níveis de células somáticas em leite de tanques de resfriamento em dez propriedades localizadas na região agreste no estado do Rio Grande do Norte

Teste	Sensibilidade		VPP(%)	VPN(%)	Kappa
	(%)	Especificidade(%)			
Somaticell [®]	70	77	46	90	0,40
DeLaval Cell Count [®]	86	82	50	96	0,52

Para o Somaticell[®] houve uma maior variabilidade em relação à CCS eletrônica, o que diminuiu a concordância entre os testes, e isso pode ser atribuído ao efeito de diferentes interpretações dos resultados da CCS, quanto aos executantes do teste. O que não foi avaliado nesse estudo.

CONCLUSÃO

Os testes Somaticell[®] e DeLaval Cell Count[®] apresentam resultados satisfatórios como metodologia alternativa para determinação da contagem de células somáticas em leite cru de tanques de resfriamento.

REFERÊNCIAS

- Brasil. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Estabelece o regulamento fixar os requisitos mínimos que devem ser observados para a produção, a identidade e a qualidade do leite. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 de dezembro de 2011. Seção 1, p.1-24.
- Brito, N.M.; Junior, O.P.A.; Polese, L. & et al. 2003. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas: Revista Ecotoxicol e Meio Ambiente*, 13:129-146.
- Gordis, L. 2004. Avaliação da validade e da confiabilidade dos testes diagnósticos e de rastreamento. Editora Revinter, 2^ªed. p. 63-81.
- International Dairy Federation, Milk. Enumeration of somatic cells. IDF Standard 148A, Brussels. 1995, 8p.
- Medeiros, E.S., Pinheiro Junior, J.W., Peixoto, R.M. & et al. 2008. Avaliação do exame microbiológico, California Mastitis Test e Somaticell[®] no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos leiteiros. *Medicina Veterinária*, 2:16-22.
- Ndegwa, E.N., Mulei, C.M. & Munyua, S.J. 2000. The prevalence of subclinical mastitis in dairy goats in Kenya. *Journal of the South African Veterinary Association*, 71:25-27.
- Rodrigues, A.C.O., Cassoli, L.D., Machado, P.F. & et al. 2009. Short communication: Evaluation of an on-farm test to estimate somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 92:990-995.
- Rodrigues, A.C.O. Identificação bacteriana a campo da mastite bovina para orientar protocolos de tratamento. 2008. Piracicaba. Tese (Doutorado em Ciências Animal e Pastagens) – Curso de Pós-graduação em Ciências, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 97p.
- Ruegg, P.L. 2003. Investigation of mastitis problems on farms – Review. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 19:47-63.
- Ruegg, P.L., Hulland, C. & Rieth, B. 2005. Performance of the Direct Cell Counter used on milk samples obtained from fresh cows. In: National Mastitis Council Annual Meeting, Orlando: Anais...Orlando: National Mastitis Council, p.291-292.
- Santos, M.V. & Fonseca, L.F.L. 2007. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Editora Manole, 1^ªed. p. 314.