

Comportamento da proteína C reativa em vacas leiteiras, comparado ao *California Mastitis Test*

Paulo Henrique Braz^{1*}, Leandro de Souza Kuhn², Sandriele Goes de Campos Deboleto³, Alexsander Toniazco de Matos¹, Thiago Leite Fraga¹

¹Docente do Centro Universitário da Grande Dourados, Departamento de Patologia Clínica Veterinária. Dourados – MS Brasil. E-mail: pauloh.braz@hotmail.com

²Discente do Centro Universitário da Grande Dourados, Departamento de Patologia Clínica Veterinária. Dourados – MS Brasil. E-mail: leandroskuhn@hotmail.com

³Auxiliar de Laboratório do Centro Universitário da Grande Dourados, Departamento de Patologia Clínica Veterinária. Dourados – MS Brasil. E-mail: sandrieledeboleto@outlook.com

RESUMO. Este trabalho teve como objetivo descrever o comportamento da Proteína C Reativa (PCR), comparada aos resultados do *California Mastitis Test* (CMT) em vacas leiteiras. Foram utilizadas 28 vacas produtoras de leite para a detecção de mastite subclínica. Dentre estes animais, 21 (75%) foram positivas no teste do CMT e 10 (35,7%) foram positivos para a PCR. Ao analisar os resultados pelo teste McNemar foi possível concluir que os testes diagnósticos não possuem relação estatística. Pode ser concluído que a PCR pode ser utilizada como auxiliar na interpretação de diagnóstico para mastite subclínica, quando associada ao CMT.

Palavras chave: Inflamação, mastite, PCR

C-Reactive Protein behavior in dairy cows, compared to the California Mastitis Test

ABSTRACT. The objective of this study was to describe the behavior of C-reactive protein (CRP), compared to the results of the California Mastitis Test (CMT) in dairy cows. Thirty-eight dairy cows were used to detect subclinical mastitis. Among these animals, 21 (75%) were positive in the CMT test and 10 (35.7%) were PCR positive. When analyzing the results by the McNemar test it was possible to conclude that the diagnostic tests have no statistical relation. It can be concluded that PCR can be used as an aid in the diagnostic interpretation for subclinical mastitis when associated with CMT.

Keywords: Inflammation, mastites, CRP

Comportamiento de la Proteína C Reactiva en las vacas lecheras en comparación con la California Mastitis Test

RESUMEN. Este estudio tuvo como objetivo describir el comportamiento de la proteína C-reactiva (CRP), en comparación con la Prueba de Mastitis California (CMT) en las vacas lecheras. Se utilizaron 28 vacas productoras de leche para la detección de mastitis subclínica. Entre estos animales, 21 (75%) fueron positivos en la prueba MTC y 10 (35,7%) fueron positivos para PCR. Al analizar los resultados mediante la prueba de McNemar se concluyó que las pruebas de diagnóstico no poseen relación estadística. Se puede concluir que la PCR se puede utilizar como una ayuda de diagnóstico en la interpretación para la mastitis subclínica, cuando se asocia con CMT.

Palabras clave: Inflamación, mastitis, PCR

Introdução

A mastite é uma doença que gera um processo inflamatório nas glândulas mamárias e caracteriza-se por apresentar alterações patológicas no tecido glandular, além de modificações físico-químicas no leite ([IDF, 1987](#); [Cassol et al, 2000](#)). Dentre as diversas patologias que afetam o rebanho leiteiro, esta enfermidade se destaca por causar grandes prejuízos, como o descarte do leite, a queda da produção leiteira, os gastos com antibióticos e, eventualmente, o descarte do animal ([Smith, 2006](#)).

O *California Mastitis Test* (CMT) é um teste para diagnóstico mundialmente utilizado para detecção de mastite subclínica. A interpretação do exame baseia-se reação entre o reagente comercial e o material genético das células somáticas presentes no leite ([Schalm and Noorlander, 1957](#); [Philpot and Nickerson 1991](#), [Quinn et al. 1994](#)).

Os processos inflamatórios caracterizam-se pela liberação por parte do organismo de proteínas de fase aguda. A Proteína C Reativa (PCR) é considerada importante, por ter sua função semelhante à de um anticorpo, devido ao fato de realizar a ativação do sistema complemento, fazendo com que fagócitos capturem patógenos. Além disso, a PCR pode neutralizar a produção de superóxido, realizar degranulação neutrofílica e minimizar o acúmulo de neutrófilos em tecidos inflamados ([Gershov et al., 2000](#); [Squassoni et al., 2016](#)).

O objetivo deste trabalho foi descrever o comportamento da Proteína C Reativa em vacas leiteiras, comparados ao resultado do *California Mastitis Test* (CMT), com finalidade de utilizar a PCR como auxiliar no diagnóstico, prognóstico e tratamento dos animais acometidos por esta doença.

Material e Métodos

O projeto teve aprovação no Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA-UNIGRAN) com protocolo de número 17/16. Foram utilizadas 28 vacas leiteiras da raça Jersey, com idade variando de 4 a 15 anos de idade, localizadas em uma propriedade rural situada no município de Itaporã, Mato Grosso do Sul.

Para realização do *California Mastitis Test* (CMT) foram colocados 2 mL do leite retirado de cada teto da vaca em uma cavidade de raquete. O leite foi misturado a 2 mL do reagente detergente aniônico (alquillauril sulfato de sódio) e

homogeneizado. Após 10 segundos foi realizada a leitura da raquete. Nos animais positivos para mastite, formou-se um gel, de acordo com a quantidade de células somáticas presentes no leite. O gel foi classificado em escores, que variaram de traços (leve formação de gel) a + (fracamente positivo), ++ (reação positiva) e +++ (reação fortemente positiva).

Para realização dos exames de PCR foram utilizados 25 µl de amostra de soro, usando-se partículas de látex revestidas com anticorpo monoclonal anti-PCR por aglutinação indireta, para instilação no Kit comercial (Wama Diagnóstica®), considerado negativo quando havia total ausência de aglutinação, indicativo de concentração inferior a 6 mg/L. Quando ocorreu aglutinação do soro, a concentração era igual ou superior a 6 mg/L. As amostras positivas foram diluídas em solução salina (NaCl a 0,9%) nas proporções 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 para semi-quantificar o resultado.

Os resultados da PCR das vacas foram comparados aos encontrados no CMT utilizando-se o teste de McNemar, para a comparação de duas amostras pareadas.

Resultados e Discussão

Dentre as 28 vacas analisadas, 21 (75%) foram positivas no teste do CMT e 10 (35,7%) foram positivas para a PCR ([Tabela 1](#)). Para analisar a correlação entre os exames do CMT e da PCR foi utilizado o teste de McNemar. Observou-se na tabela de valores críticos do $X^2 = 0,0074$, para 27 graus de liberdade, é inferior aos valores críticos da tabela para nível de confiança de 5%. Desta forma, não há diferença estatística significativa entre os testes para diagnóstico. Os exames devem ser analisados de forma independente.

O CMT, embora utilizado como instrumento rotineiro para o diagnóstico de mastite subclínica, tem tido muitos resultados falso-positivos, por se tratar de um teste subjetivo, dependente da visualização da formação de um gel ([Martin et al. 1994](#), [Casura et al. 1995](#)). Desta forma, nota-se que 7 (25%) vacas foram positivas para o teste de CMT com classificação acima de 2 cruces e negativas para o teste de PCR. Estes resultados podem ser confrontados, visto que a secreção da PCR, predominantemente hepática, começa 4 a 6 horas após o estímulo, e duplica a cada 8 horas, até atingir o pico entre 36 e 50 horas. A PCR tem meia vida plasmática de 19 horas e mesmo após

estímulo único, como trauma ou cirurgia, pode levar vários dias até retornar a níveis basais (Mitaka, 2005). A PCR é produzida principalmente no tecido hepático em resposta a estímulos da interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α). Ela é a responsável pela ativação da cascata do complemento que regula os processos inflamatórios, assim, a PCR é um marcador sensível; porém, com baixa especificidade de inflamação, não sendo possível detectar o local em que ocorre o processo inflamatório (Ridker et al., 1997; Mortensen, 2001).

Tabela 1. Resultado dos exames *California Mastitis Test* e Proteína C Reativa de 28 vacas Jersey, submetidas ao exame para diagnóstico de mastite subclínica.

Animal	<i>California Mastitis Test</i>	Proteína C Reativa
1	Negativo	Negativo
2	Positivo +	12mg/L
3	Positivo +	Negativo
4	Positivo +	Negativo
5	Positivo ++	Negativo
6	Negativo	Negativo
7	Positivo +	12mg/L
8	Positivo ++	Negativo
9	Positivo ++	Negativo
10	Negativo	48mg/L
11	Positivo +	Negativo
12	Negativo	Negativo
13	Positivo +	24mg/L
14	Positivo +	Negativo
15	Negativo	Negativo
16	Positivo +	6mg/L
17	Positivo +	Negativo
18	Positivo ++	Negativo
19	Positivo ++	12mg/L
20	Negativo	Negativo
21	Positivo +	Negativo
22	Positivo ++	Negativo
23	Positivo	12mg/L
24	Negativo	6mg/L
25	Positivo +	Negativo
26	Positivo ++	6mg/L
27	Positivo ++	Negativo
28	Positivo +	12mg/L

*+ (fracamente positivo); ++ (reação positiva); +++ (reação fortemente positiva).

Desta forma, é importante ressaltar que a PCR pode ser utilizada no auxílio para diagnóstico de mastite subclínica, visto que é uma doença caracterizada por reações brandas, sem alterações macroscópicas detectáveis, porém, com alterações químicas e microbiológicas do leite (Barkema et al 1999; Brito and Brito, 1999). Nestes casos, a detecção de exame microbiológico é fundamental para determinar o diagnóstico final da doença.

Como demonstrado, em 2 (7,1%) casos ocorreu aumento da PCR sem determinar positividade no CMT. Exames clínicos complementares são necessários para concluir o diagnóstico inflamatório destes animais. Nestes casos, sugere-se que sejam feitas coletas seriadas da PCR, para confirmação do processo inflamatório (Baldacci, 2001).

Conclusão

A PCR pode ser utilizada como auxiliar na interpretação de diagnóstico para mastite subclínica, quando associada ao CMT. O CMT ainda deixa dúvidas quanto a sua interpretação, desta forma a PCR se mostra um exame rápido, fácil e barato para a conclusão de diagnóstico da doença em vacas leiteiras.

Referências Bibliográficas

- Baldacci, E. R. 2001. Qual a utilidade da proteína c reativa quantitativa no manejo das infecções em crianças? *Revista da Associação Médica Brasileira*. São Paulo. 47:177-182.
- Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Beiboer, M. L., Benedictus, G. & Brand, A. 1999. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 82, 1643-1654.
- Brito, M. A. V. P. & Brito, J. R. F. 1999. Diagnóstico microbiológico da mastite. Juiz de Fora, MG: *Embrapa Gado de Leite*, 16p. (Embrapa Gado Leite. Circular Técnica, 55).
- Cassol, D. M. S., Sandoval, G. A. F., Pericole, J. J., Gil, P. C. N. & Marson, F. A. 2000. Introdução agentes da mastite diagnóstico e tratamento. *A Hora Veterinária*, 29, 15-17.
- Casura, C., Schukken, Y. H. & Rüschi P. 1995. Quality assessment of California mastitis test as a diagnostic tool in quarter somatic cell count estimation. *Proc. IDF Int. Mastitis Seminar*, Tel Aviv, p. 3.57-3.58.
- Gershov, D., Kim, S., Brot, N. & Elkon, K.,B. 2000. C-Reactive Protein binds to apoptotic

- cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: Implications for systemic autoimmunity. *Journal of Experimental Medicine*, 192, 1353-1363.
- IDF, International Dairy Federation 1987. Bovine mastitis: definition and guidelines for diagnosis. IDF Bulletin 211, 24p.
- Martin, S. W., Meek, A. H. & Willeberg, P. 1994. Measurement of disease frequency and production, p. 48-76. In: Martin S. W., Meek A. H. & Willeberg P. (ed.) *Veterinary Epidemiology. Principles and Methods*. Iowa State University Press, Ames.
- Mitaka C. 2005. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clinica Chimica Acta*, 351, 17-29.
- Mortensen R. F. 2001. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Journal of Immunology Research*, 24, 163-176.
- Philpot, W.N. & Nickerson, S.C. 1991. *Mastitis: Counter Attack*. Naperville: Babson Bros, 150p.
- Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B. K. & Carter, G. R. 1994. Mastitis, p. 327-344. In: *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing, London.
- Ridker P. M., Cushman, M., Stampfer, M. J., Tracy, R. P & Hennekens, C. H. 1997. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *The New England Journal of Medicine*, 336, 973-979.
- Schalm, A. W. & Noorlander, D. O. 1957. Experiments and observations leading to developments and the California Mastitis Test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 130, 199- 207.
- Smith, B. P., 2006. *Medicina Interna de Grandes Animais*, 3^o ed. Barueri, SP.
- Squassoni, G. F., Motheo, T. F., Feliciano, M. A. R. & Vicente, W. R. R. 2016. Concentração sérica de proteína c-reativa em cadelas hípidas, gestantes ou com piometra. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 9, 1-8.

Article History:

Received 5 May 2017

Accepted 7 June 2017

Available on line 4 August 2017

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.