

## **CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE BOVINO ESTIMADAS POR DIFERENTES METODOLOGIAS<sup>1</sup>**

Angelo Mathias Halmenschlager Schnorr<sup>2</sup>, Gian Ricardo Zuffo<sup>3</sup>, Patrik Breitenbach<sup>3</sup>, Emiliano A. Veiga<sup>4</sup>, Gabriela Regina Matté<sup>4</sup>, Elisandra Rigo<sup>5</sup>, André Thaler Neto<sup>6</sup>, Aline Zampar<sup>7</sup>, Ana Luiza Bachmann Schogor<sup>7\*</sup>.

<sup>1</sup> Vinculado ao projeto “Qualidade do leite em tempo real: o que a cadeia láctea pode ganhar com isso?” - 2019TR729. Parte da dissertação de mestrado do segundo autor.

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Zootecnia – CEO – Bolsista PROBITI

<sup>3</sup> Mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – CEO, UDESC

<sup>4</sup> Colaboradores – Bionexus Tecnologia Ltda. Chapecó, SC.

<sup>5</sup> Professora do Dep. de Eng. De Alimentos e Eng. Química – CEO

<sup>6</sup> Professor do Dep. de Produção Animal e Alimentos – CAV

<sup>7</sup> Professoras do Dep. de Zootecnia – CEO. \*Orientadora, e-mail: ana.schogor@udesc.br

A produção leiteira no Brasil tem grande impacto socioeconômico. Além de ser um alimento fonte de cálcio e proteína de alto valor biológico e originar vários outros produtos como queijos, iogurtes, creme de leite e requeijão é produzido em um número significativo de propriedades de agricultura familiar. Por meio da contagem de células somáticas (CCS) no leite é possível obter indicativos das condições sanitárias da propriedade, boas práticas e/ou da saúde do úbere da vaca. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) alterou algumas normas em 2018 da instrução normativa número 76 que trata das regras técnicas para as características e a qualidade do produto na indústria e impõem um limite de  $CCS < 500.000$  cél./ml com o padrão de média geométrica trimestral. Portanto, formas de monitorar os níveis de CCS de forma precisa e rápida é importante. Sendo assim, o objetivo foi avaliar o potencial do uso da espectroscopia de bioimpedância elétrica (EBE) na determinação da contagem de células somáticas (CCS) no leite bovino.

Foram analisadas 50 amostras de tanques de expansão e 50 de animais individuais, advindas de propriedades e rebanhos comerciais da região de Chapecó, SC. Alíquotas foram obtidas com e sem conservante (Bronopol®) para análises da CCS por diferentes metodologias. O método de referência foi dado como a contagem em lâminas, em que foram contadas entre 100 e 200 células e multiplicada sua contagem pela área da lâmina, considerando o volume de amostra utilizado. A análise de CCS por citometria de fluxo, foi realizada em dois laboratórios pertencentes à Rede Brasileira de Controle de Qualidade do Leite (RBQL), denominados LAB 1 e LAB 2, sendo que ambos determinam a CCS utilizando-se equipamento Somacount FC® (Bentley Instruments, Chaska, MN, EUA). Por fim, a análise da CCS por espectroscopia de bioimpedância elétrica foi realizada utilizando-se um espectrômetro comercial, composto por sonda tetrapolar, conectados a um software. As análises foram realizadas em três alíquotas de cada amostra, sem conservantes. Os modelos de regressão exploraram um total de 29 frequências, sendo duas em baixa frequência, 22 em média frequência e cinco em alta frequência. Três versões de calibração para amostras de tanques de expansão e cinco versões de calibração para amostras individuais por vaca foram fornecidos pela empresa fabricante do equipamento em

desenvolvimento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em que foram correlacionados os resultados das análises baseados em distintas metodologias, a saber: análise realizada pela metodologia de referência ISO; análise por EBE (com diferentes versões de calibração do equipamento), análise por citometria de fluxo, nos laboratórios denominados LAB 1 e LAB 2 (distintos e credenciados pela RBQL).

Os valores médios das 50 amostras de leite oriundas de tanques de expansão e de animais individualmente, para a CCS pelos diferentes métodos e versões dos equipamentos avaliados, diferenciação celular, composição e dados zootécnicos encontram-se na Tabela 1. Pode-se observar que para amostras individuais, tanto os métodos de referência quanto as análises realizadas em laboratórios da RBQL apontaram valores acima do estipulado na legislação, que é de 500.000 cél/mL (BRASIL, 2018), e mais próximos numericamente entre si. Todavia, os valores estimados por EBE ficaram abaixo do estimado pelo método de referência ou por citometria de fluxo. Por outro lado, os dados para amostras oriundas de tanque de expansão apresentaram valores mais coerentes e menos discrepantes entre si. Isto se deve ao fato de amostras de tanque serem uma junção de todas as amostras do rebanho, ocorrendo o fator de diluição da amostra. Neste sentido, a CCS é mais bem estimada pelo método de EBE para amostras de tanque de expansão, e os resultados mostram seu potencial de uso para análise de CCS no leite.

**Tabela 1.** Médias, desvio-padrão (DP), valores mínimos (Mín) e máximos (Máx) para as variáveis de contagem de células somáticas (CCS) pelos diferentes métodos e versões de calibração dos equipamentos avaliados.

Variável	Amostras Individuais				Amostras de tanque de expansão			
	Média	DP	Mín.	Máx.	Média	DP	Mín.	Máx.
CCS (Ref) <sup>1</sup>	1.440	1328	154,8	5.293	453,5	389,71	23,75	1721,91
CCS Lab. 01 <sup>2</sup>	1.319	1441	98,3	6.850	393,86	263,41	121,00	1248,43
CCS Lab. 02 <sup>2</sup>	1.348	1360	87,6	5.429	392,81	288,20	104,00	1333
CCS EBE v0 <sup>3</sup>	532,67	694,16	71,98	3657	316,15	40,21	245,31	527,26
CCS EBE v1 <sup>3</sup>	287,83	196,80	51,53	1208	415,92	46,84	324,64	633,88
CCS EBE v2 <sup>3</sup>	365,80	225,42	65,97	1208	571,59	69,99	399,16	751,16
CCS EBE v3 <sup>3</sup>	534,38	235,74	69,84	1208	-	-	-	-
CCS EBE v4 <sup>3</sup>	935,53	698,31	148,42	4587	-	-	-	-

Fonte: autores. <sup>1</sup>Método padronizado pela metodologia ISO; <sup>2</sup>Método por citometria de fluxo; <sup>3</sup>Método por espectroscopia de bioimpedância elétrica, com até cinco diferentes versões de calibração do equipamento (de v0 a v4).

**Palavras-chave:** Espectroscopia de bioimpedância elétrica; citometria de fluxo, qualidade do leite