

# Produção intracelular de espécies reativas de oxigênio e fagocitose de *Staphylococcus aureus* por neutrófilos lácteos de quartos mamários com alta e baixa contagem de células somáticas

Paula Cristina Cardoso Molinari<sup>[a]</sup>, José Augusto Ferronato<sup>[a, b]</sup>\*, Maiara Garcia Blagitz<sup>[a]</sup>, Alice Maria Melville Paiva Della Libera<sup>[a]</sup>, Camila Freitas Batista<sup>[a]</sup>, Fernando Nogueira Souza<sup>[a]</sup>

<sup>[a]</sup> Veterinary Clinical Immunology Research Group, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>[b]</sup> Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), Xanxerê, SC, Brasil

\* Autor correspondente

e-mail: jose\_augustoferronato@hotmail.com

## Resumo

A mastite é a inflamação da glândula mamária, frequentemente causada por bactérias. É a doença de maior impacto econômico na pecuária leiteira devido à redução na produção e qualidade do leite, uso de antimicrobianos, descarte do leite e maior demanda de mão de obra. A abordagem imunológica certamente tem potencial prognóstico, preventivo e terapêutico. Portanto, a melhor percepção da função dos neutrófilos pode aprofundar nosso conhecimento da resposta imune da glândula mamária e subsidiar ferramentas de seleção de animais resistentes a infecções intramamárias, aumentando a produtividade e lucratividade da atividade leiteira. O presente estudo utilizou 112 amostras provenientes de quartos mamários de 28 vacas Holandesas, que foram divididas em amostras de leite com baixa ( $n = 72$ ;  $\leq 2 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ ) ou alta ( $n = 40$ ;  $2 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ ) contagem de células somáticas (CCS). A porcentagem de neutrófilos (CH138A<sup>+</sup>) no leite, a produção intracelular de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a fagocitose de *Staphylococcus aureus* pelos neutrófilos do leite foram avaliadas por citometria de fluxo. A distribuição dos dados foi inicialmente verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para a comparação entre os grupos, empregou-se o teste T de Student para amostra paramétricas e o teste de Mann-Whitney para amostras não paramétricas. Além disso, os valores preditivos das funções neutrofilicas (sensibilidade, especificidade e o índice Youden) foram determinados utilizando o limiar de  $\text{CCS} \leq 2 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  como proveniente de quartos mamários saudáveis. Os resultados do presente estudo demonstraram maior porcentagem de neutrófilos (CH138A<sup>+</sup>) e de neutrófilos que produziram ERO em amostras de leite com alta CCS (% CH138A<sup>+</sup>  $21.57 \pm 14.72$ ,  $P = 0,0003$ ; % ERO  $73.83 \pm 24.18$ ;  $P = 0,008$ ) do que em vacas com baixa CCS (% CH138A<sup>+</sup>  $12.57 \pm 12.87$ ; % ERO  $64.77 \pm 22.77$ ). Por outro lado, a intensidade de fagocitose de *S. aureus* por neutrófilos foi maior em amostras de

leite com baixa CCS ( $176.5 \pm 89.92$ ,  $P = 0,003$ ) do que em amostras de quartos mamários com alta CCS ( $125.7 \pm 78.31$ ), demonstrando maior atividade funcional destas células neste grupo. No entanto, não se observou diferença estatística entre os grupos na porcentagem de fagocitose e intensidade de produção de ERO pelos neutrófilos lácteos. A avaliação das funções neutrofílicas para o diagnóstico da mastite não apresentou valores de sensibilidade e especificidade altos, que foram confirmados pelo baixo índice Youden, portanto não podem ser indicados para o diagnóstico da mastite bovina. No entanto, os resultados do presente estudo reforçam a ideia de que os neutrófilos do leite com menor capacidade fagocítica podem ser associados à alta CCS, e podem ser considerados como ferramenta para identificar animais mais susceptíveis a infecções intramamárias.