

Estudo comparativo das diferentes técnicas na contagem diferencial de leucócitos no leite

Paulo Vitor Takano^[a], José Augusto Ferronato^{[a,b]*}, Maiara Garcia Blagitz^[a], Camila Freitas Batista^[a], Alice Maria Melville Paiva Della Libera^[a], Fernando Nogueira Souza^[a]

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

^[b] Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), Xanxerê, SC, Brasil

* Autor correspondente

e-mail: jose_augustoferronato@hotmail.com

Resumo

A contagem de células somáticas é um parâmetro amplamente utilizado para monitorar a saúde do úbere e a qualidade do leite, porém não diferencia as distintas populações leucocitárias. A contagem microscópica direta por esfregaços é rotineiramente utilizada para diferenciação das populações celulares, no entanto demanda maior tempo para análise e apresenta baixa repetibilidade devido à subjetividade da avaliação. Por outro lado, a citometria de fluxo apresenta maior rapidez e sua reprodutibilidade é alta, avaliando mais de 10.000 células em um curto espaço de tempo. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi comparar as diferentes técnicas de contagem diferencial de leucócitos no leite. Para tal, foram utilizadas 31 vacas da raça Holandesa Preta e Branca em lactação (124 quartos mamários). Foram empregadas a contagem automática de células somáticas e a contagem diferencial de leucócitos pelas técnicas de citocentrifugação, contagem diferencial de leucócitos por esfregaço direto e citometria de fluxo com a utilização de anticorpos monoclonais específicos para a identificação de cada população leucocitária. Os resultados demonstraram correlação positiva e significativa entre a proporção de PMN pelas técnicas citometria de fluxo ($r = 0,48$, $P \leq 0,0001$), citocentrifugação ($r = 0,43$, $P \leq 0,0001$), contagem microscópica direta por esfregaços ($r = 0,39$, $P \leq 0,0001$) e contagem automática de células somáticas. Por outro lado, quando as técnicas foram comparadas em relação à proporção de MN, a correlação foi negativa e significativa com a CCS automática, sendo que as técnicas corroboraram entre elas. A correlação da porcentagem de macrófagos pela técnica de citocentrifugação com a CCS apresentou-se negativa e não significativa ($r = -0,11$, $P \geq 0,05$), enquanto a citometria de fluxo foi negativa e significativa ($r = -0,65$, $P \leq 0,0001$), o que se deve provavelmente à maior porcentagem de macrófagos na citocentrifugação do que na citometria de fluxo, independente da faixa de CCS. Por fim, a correlação da

porcentagem de linfócitos pela técnica da citocentrifugação com a CCS foi negativa e significativa ($r = -0,35$, $P \leq 0,001$), todavia a citometria de fluxo apresentou relação positiva e significativa ($r = 0,40$, $P \leq 0,001$). No presente estudo, houve diferenças na proporção das distintas populações leucocitárias entre as técnicas de contagem diferencial de leucócitos no leite, resultado da possível subjetividade do examinador na contagem diferencial de leucócitos pelas técnicas de citocentrifugação e contagem microscópica direta por esfregaços. Desta forma, o presente estudo reforça a ideia de que a citometria de fluxo pode ser uma ferramenta confiável no controle e diagnóstico da mastite, especialmente ao considerar que não é influenciada pela subjetividade do examinador e que avalia um número expressivo de células em um curto espaço de tempo.