

Simpósio de Integração Acadêmica

“Bicentenário da Independência: 200 anos de ciência, tecnologia e inovação no Brasil e 96 anos de contribuição da UFV”

SIA UFV 2022



Atividade de NAGase como um possível teste para mastite caprina

MENEZES, L. M. S. ¹; MOREIRA, M. A. S. ¹; ALBUQUERQUE, J. L. A. ¹; POLVEIRO, R. C. ¹; FUJIKURA, J. M. ¹;

¹ Laboratório de Doenças Bacterianas (LDBAC), Setor de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Email: luisa.menezes@ufv.br; masm@ufv.br; jessica.albuquerque@ufv.br; richard.polveiro@ufv.br; juliana.fujikura@ufv.br;

Pesquisa - Área temática: Medicina Veterinária - palavras-chave: teste fluorométrico, ruminante, leite.

Introdução

Para o diagnóstico e tratamento da mastite é necessária a associação de avaliações que detectem a inflamação e identifiquem rapidamente o agente etiológico. Os testes como CBT e CCS são pouco conclusivos nos rebanhos caprinos sendo necessário a busca por novos métodos de diagnóstico. A NAGase é uma enzima liberada no processo hidrolítico a fim de degradar tecido danificado em uma ação pró-inflamatória, desse modo pode ser usada como parâmetro adequado para o diagnóstico de mastite em cabras leiteiras.

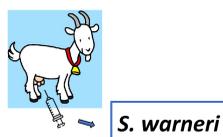
Objetivo

No presente estudo foi analisado a ação da NAGase lisossomal no leite de animais mastíticos naturalmente infectados com o objetivo de avaliá-la como um indicador de mastite caprina, padronizando um teste fluorométrico da mesma e comparando os resultados obtidos com testes já realizados de CCS e CBT.

Material e Metodos

50 amostras de animais inoculados com *S. warneri*

Atividade NAGase medida pelo método fluorométrico em placas



C+ 1 2 3 C- H₂O



C+ : 10 µl controle positivo + 10 µl substrato 4-MUAG (2,25 mM) em tampão citrato (0,25 M, pH 4,6)
1, 2 e 3 : 10 µl de amostra teste + 40 µl substrato 4-MUAG (2,25 mM) em tampão citrato (0,25 M, pH 4,6)
C- : 10 µl controle negativo + 10 µl substrato 4-MUAG (2,25 mM) em tampão citrato (0,25 M, pH 4,6)
H₂O: Água destilada



Caixa escura no agitador por 1 min

Incubação de 14 min a 20 °C

Liberção de 4-MU no ambiente ácido

Leitura da fluorescência medida em fluorímetro. Filtro excitação de 355 nm e de emissão 460 nm

Para parar a reação: 150 µl de tampão glicina e agitado por 1 min

Resultados e Discussão

Das 50 amostras analisadas apenas 10 foram positivas para mastite considerando o valor mínimo de CBT, enquanto 37 foram contadas usando o limite de CCS. A média da atividade da NAGase foi de 1,45 vezes a mais nos indivíduos selecionados pelo limite de CBT do que aqueles usando CCS (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros descritivos da atividade da N-acetil-β-D-glucosaminidase (NAGase), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) de indivíduos considerados mastíticos pelos limites de CCS e CBT estabelecidos para mastite.

Parâmetros	Limite de CBT para mastite			Limite de CCS para mastite		
	CBT	CCS	NAGASE	CBT	CCS	NAGASE
Média	1681600.0	18745000	26146.16	490954.1	15921486	18051.53
Desvio Padrão	733031.5	13319895	17707.47	823942.5	19262873	15131.60
Mín.	743.000.0	3576000	6806.57	200.0	1021000	2525.56
Máx.	3025000.0	46906000	57405.06	3025000.0	98452000	57405.06
(n)*	10	10	10	37	37	37

* (n) representa o número de indivíduos selecionados usando os limites de CBT e CCS aplicados para mastite.

A correlação de Pearson revelou uma associação linear baixa de NAGase com CBT (0,51) e moderada com CCS (0,63) e não foi detectada correlação significativa entre CBT e CCS (Tabela 2).

Tabela 2. Correlação produto-momento de Pearson entre atividade da N-acetil-β-D-glucosaminidase (NAGase), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT)

Par de variáveis	Correlação	Grau de liberdade	t	Valor P
NAGASE - CBT	0,51	47	4.106	0,00016
NAGASE - CCS	0,63	47	5.619	<0,0001
CBT - CCS	0,19	47	1,3214	0,19280

O teste t de Student foi usado para testar se as correlações eram zero.

A NAGase possui um grande potencial para indicar mastite caprina, tendo em vista a correlação positiva com o CCS, que por sua vez é um dos testes mais condizentes quanto a classificação de animais mastíticos entre os atuais testes. Os valores de NAGase são expressivamente maiores nos animais considerados mastíticos pelo CCS do que os classificados como não mastíticos nas amostras.

Conclusão

A NAGase tem um grande potencial para ser usada como uma nova ferramenta para o teste de mastite caprina, podendo complementar os testes tradicionais ou até mesmo com potencial para ser usada exclusivamente nesta função.

Apoio Financeiro

