

TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA EM BEZERROS MISTIÇOS CANCHIM-NELORE

Thaís Gomes Rocha¹, Camila Franciosi¹, Ricardo Perecin Nociti², Cláudia Aparecida da Silva Nogueira³, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio⁴, José Jurandir Fagliari⁵

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil
E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos neonatos, gama glutamiltransferase, imunoglobulina G, proteínas séricas.

ABSTRACT

PASSIVE IMMUNE TRANSFER IN CROSSBRED CANCHIM-NELORE CALVES

This study assessed serum samples from 10 crossbred Canchim-Nelore calves, which were born from 5 primiparous and 5 pluriparous cows. The aim was to determine serum activities of gama-glutamyltransferase and alkaline phosphatase as well as serum concentrations of total protein, albumin, globulins, including immunoglobulin. These samples were collected just after birth and when calves were 1, 2, 7, 15 and 30 days old. Research findings revealed adequate transfer of colostrum immunoglobulins in both groups. There was a reduction of albumin concentrations, whereas serum activities of both enzymes and serum concentrations of total proteins, globulins and immunoglobulins increased after colostrum intake.

KEYWORDS: Gama-glutamyltransferase, immunoglobulin G, newborn calf, serum proteins.

INTRODUÇÃO

A falha na transferência das imunoglobulinas colostrais é uma das principais causas de doença septicêmica em bezerros, modulando a ocorrência de mortes e a gravidade de doença entérica e respiratória no neonato (BARRINGTON et al., 2002).

Vacas leiteiras primíparas produzem colostro com menor concentração de imunoglobulinas, em comparação às vacas pluríparas; embora a influência do número de

partos em vacas de corte aparentemente não influencie a transferência de imunidade passiva aos bezerros, as crias de novilhas são mais sujeitas a fatores de risco que predisõem a menor absorção de anticorpos (COSTA et al., 2008).

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar comparativamente a transferência de imunidade passiva em bezerros mestiços Canchim-Nelore, filhos de vacas primíparas ou pluríparas, e verificar a influência do número de partições na eficiência da transferência de imunoglobulinas da mãe para o neonato, através do colostro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 10 bezerros Canchim-Nelore recém-nascidos sadios (cinco filhos de vacas primíparas - Grupo 1; cinco crias de vacas pluríparas - Grupo 2). Durante a fase experimental os bezerros eram mantidos junto às mães, em pastagens de *Brachiaria brizantha* CV Marandu, mamando à vontade.

Amostras de 10mL de sangue foram obtidas por venopunção jugular em tubos a vácuo, sem anticoagulante, em seis momentos: antes da ingestão do colostro (M0) e 1 (M1), 2 (M2), 7 (M3), 15 (M4) e 30 (M5) dias após o nascimento.

Foram determinadas as atividades séricas das enzimas gama glutamiltransferase (método de Szasz modificado) e fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado), bem como as concentrações de proteína total (método do biureto) e albumina (método do verde de bromocresol), utilizando-se conjuntos de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (Labquest, Labtest, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) em comprimento de luz apropriado para cada teste. O teor de globulinas foi determinado aritmeticamente pela diferença entre os teores séricos de proteína total e de albumina.

Para o fracionamento protéico em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi utilizada a técnica proposta por LAEMMLI (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão); como referência foi utilizada uma solução marcadora (Sigma, St Louis, MO, USA) com diferentes pesos moleculares, além da proteína purificada IgG bovina (Sigma, St. Louis, MO, USA).

Para análise estatística utilizou-se um delineamento com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas

significativas quando $P < 0,05$. Os contrastes entre pares de médias foram determinados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises encontram-se na forma de médias e desvios-padrão.

As atividades séricas de gama glutamiltransferase (GGT) não variaram significativamente entre os grupos, constatando-se valores mínimos antes da ingestão de colostro ($19,9 \pm 6,84$ U/L e $32,1 \pm 12,6$ U/L em bezerros dos grupos 1 e 2, respectivamente). No M1 (dia seguinte ao nascimento) constatou-se aumento significativo da atividade de GGT, com valores de 3.833 ± 1.674 U/L, no Grupo 1, e 2.921 ± 1.656 U/L no Grupo 2. Posteriormente, notou-se redução gradativa da atividade enzimática até os 30 dias de idade, observando-se valores de 1.997 ± 1.156 U/L, em M2, e $55,1 \pm 14,7$ U/L, em M5, no Grupo 1. Nos bezerros do Grupo 2 estes valores foram 1.189 ± 696 U/L (M2) e $52,0 \pm 12,6$ U/L (M5). A GGT tem alta atividade no colostro bovino, sendo absorvida em grande quantidade pelos enterócitos de bezerros neonatos (FAGLIARI et al., 1996). Em bezerros pode-se, então, considerar a atividade desta enzima como um indicador indireto de transferência de imunoglobulinas colostrais (FEITOSA et al., 2001). Em estudo sobre a transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin, COSTA et al. (2008) verificaram valor máximo da atividade de GGT após a ingestão de colostro, decrescendo abruptamente até atingir valores fisiológicos aos 60 dias de idade.

A atividade sérica de fosfatase alcalina (ALP) não diferiu entre os grupos; notou-se aumento significativo após a ingestão de colostro (de $270 \pm 54,3$ U/L para 773 ± 307 U/L, no Grupo 1, e de $297 \pm 87,2$ U/L para 779 ± 429 U/L no Grupos 2). Nos momentos subsequentes, a atividade de ALP apresentou variações em ambos os grupos. Provavelmente isto se deva a sua ampla distribuição em diversos órgãos e tecidos, sendo característico o aumento de sua atividade em animais em crescimento (KANEKO et al., 2008). FAGLIARI et al. (1996) observaram menor variação na atividade de ALP em bezerros da raça Holandesa do nascimento aos sexto dia de vida, com valor mínimo de 309 U/L e máximo de 388 U/L. KNOWLES et al. (2000) afirmaram que a atividade de ALP em bezerros recém-nascidos alcança valor até quatro vezes maior do que o limite superior do intervalo de referência, nos primeiros dias de vida.

Verificou-se menor concentração de proteína total antes da ingestão do colostro ($3,98 \pm 0,37$ g/dL, no Grupo 1, e $4,34 \pm 0,11$ g/dL no Grupo 2). Notou-se diferença significativa entre os grupos somente após a ingestão do colostro, quando foram verificados valores

máximos em ambos os grupos, ou seja, $7,08 \pm 0,31$ g/dL (Grupo 1) e $7,92 \pm 1,03$ g/dL (Grupo 2). Nos momentos subsequentes constatou-se redução gradativa na concentração de proteínas totais nos dois grupos, com menores teores aos 30 dias de vida ($6,08 \pm 0,29$ g/dL, no Grupo 1, e $6,29 \pm 0,32$ g/dL, no Grupo 2).

FAGLIARI et al. (1998), avaliando os constituintes sanguíneos de bezerros das raças Nelore e Holandesa verificaram, diferentemente do observado no presente estudo, aumento nos teores séricos de proteína total do nascimento aos 45 dias de idade. Notou-se redução dos teores de proteína total abaixo dos limites de referência para a espécie, relatada por KNOWLES et al., (2000), em bezerros do Grupo 1 aos 15 dias ($6,46 \pm 0,42$ g/dL) e aos 30 dias de vida ($6,08 \pm 0,29$ g/dL) e no Grupo 2 aos 30 dias de idade ($6,29 \pm 0,32$ g/dL).

O teor sérico de albumina verificado em M0 ($2,11 \pm 0,24$ g/dL e $2,17 \pm 0,16$ g/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente) diminuiu após a ingestão de colostro (M1) em ambos os grupos ($1,75 \pm 0,28$ g/dL, no Grupo 1, e $1,76 \pm 0,14$ g/dL, no Grupo 2). Nos momentos subsequentes ocorreu aumento gradativo, com valores máximos aos 30 dias de idade ($2,66 \pm 0,17$ g/dL, no Grupo 1, e $2,78 \pm 0,11$ g/dL, no Grupo 2). O teor sérico de albumina dos bezerros do presente estudo permaneceu abaixo dos limites de referência para bovinos (KANEKO et al., 2008) até os 30 dias de vida, corroborando com os achados de KNOWLES et al., (2000).

A concentração de globulinas nos animais dos Grupos 1 e 2 foi menor ao nascimento ($1,87 \pm 0,37$ g/dL, no Grupo 1, e $2,17 \pm 0,17$ g/dL, no Grupo 2), aumentando consideravelmente após a ingestão do colostro, quando diferiu significativamente entre os Grupos 1 e 2, ou seja, $5,33 \pm 0,45$ g/dL e $6,16 \pm 1,15$ g/dL, respectivamente. Notou-se, então, redução gradual dos teores de globulinas até os 30 dias de idade, quando os valores verificados nos Grupos 1 e 2 foram $3,42 \pm 0,14$ g/dL e $3,51 \pm 0,28$ g/dL, respectivamente. FAGLIARI et al. (1998) verificaram elevação no teor de globulinas em bezerros da raça Nelore em função da ingestão de imunoglobulinas colostrais.

Os teores séricos de imunoglobulina G (IgG) de cadeia pesada não diferiram significativamente entre os grupos. As menores concentrações foram verificadas ao nascimento (570 ± 142 mg/dL e 495 ± 284 mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente). No M1, o teor foi ligeiramente superior em bezerros do Grupo 2 (2.269 ± 336 mg/dL), em comparação com os animais do Grupo 1 (1.981 ± 144 mg/dL), no entanto, sem diferença significativa. Posteriormente, o teor de IgG de cadeia pesada diminuiu gradativamente e no M5 foram verificadas concentrações de 623 ± 29 mg/dL e 784 ± 81 mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente. As concentrações de IgG de cadeia leve apresentaram comportamento

semelhante, com menores valores ao nascimento ($3,37 \pm 3,85$ mg/dL, no Grupo 1, e $15,8 \pm 13,0$ mg/dL, no Grupo 2) e valores máximos um dia após o nascimento (M1), após a ingestão do colostro (969 ± 167 mg/dL e 939 ± 817 mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente). Aos 30 dias de idade os teores séricos desta proteína foram de 303 ± 44 mg/dL, no Grupo 1, e 404 ± 143 mg/dL, no Grupo 2.

Os teores de imunoglobulinas dos bezerros de vacas primíparas e pluríparas do presente estudo foram superiores a 1.600 mg/dL, caracterizando uma apropriada transferência de imunidade passiva (PERINO et al., 1993).

CONCLUSÕES

Constatou-se adequada transferência de imunidade passiva, tanto em bezerros de vacas primíparas quanto naqueles filhos de vacas pluríparas. As atividades séricas das enzimas GGT e ALP e os teores de proteína total, globulinas e IgG de cadeias pesada e leve aumentaram significativamente após a ingestão de colostro; o teor de albumina diminuiu. Em especial, a mensuração da atividade sérica de gama glutamiltransferase mostrou-se indicador indireto confiável da transferência de imunoglobulinas colostrais aos bezerros.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP, pela concessão de auxílio para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F.; Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.

COSTA, M. C.; FLAIBAN, K. K. M. C.; CONEGLIAN, M. M.; FEITOSA, F.L. F.; BALARIN, M. R. S.; LISBÔA, J. A. N. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 9, p. 410-416, 2008.

FAGLIARI, J. J.; OLIVEIRA, E. C.; PEGORER, M. F.; FERRANTE JÚNIOR, L.C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-

nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 2, p. 105-112, 1996.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*), Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; PERRI, S. H. V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama-glutamyltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 251-255, 2001.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 6.ed, San Diego: Academic Press, 2008, 916p.

KNOWLES, T. G.; EDWARDS, J. E.; BAZELEY, S. N.; BROWN, S. N.; BUTTERWORTH, A.; WARRIS, P. D. Changes in the blood biochemical and haemathological profile of neonatal calves with age. **Veterinary Record**, London, v. 147, p. 593-598, 2000.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

PERINO, L. J.; SUTHERLAND, R. L.; WOOLLEN, N. E. Serum gama-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 54, n. 1, p. 56-59, 1993.