

VALORES DE HAPTOGLOBINA PLASMÁTICA EM VACAS COM DIFERENTES CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM AMOSTRAS DE LEITE

Marcelo Fernando Colla¹, Stella Faria Valle², Priscila Secchi³, Naila Duda⁴, Miriam Scalon⁴,
João Walter Dürr⁵, Félix González⁶

1. Médico veterinário, MSc, profissional autônomo, Passo Fundo, Brasil

2. Médica veterinária, MSc, professora da Universidade de Passo Fundo, Brasil

3. Médica veterinária, mestranda do PPGCV - UFRGS, Porto Alegre, Brasil

4. Acadêmicas do curso de Medicina Veterinária da UPF, Passo Fundo, Brasil

5. Engenheiro Agrônomo, PhD, Diretor do Interbull Centre, Swedish University of Agricultural Sciences,
Uppsala, Suécia

6. Médico veterinário, DSc, professor da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
Porto Alegre, Brasil. CEP: 91540-000. E-mail: felix.gonzalez@ufrgs.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVES: Diagnóstico de mastite, fibrinogênio, proteínas de fase aguda.

ABSTRACT

PLASMA HAPTOGLOBIN VALUES IN COWS WITH DIFFERENT MILK SOMATIC CELL COUNT

This study investigates the relationship between plasma values for haptoglobin (Hp) and variations of milk somatic cell count (SCC) in dairy cows from Rio Grande do Sul. A total of 50 animals were divided into three groups according to SCC: cows with healthy mammary glands (SCC below 600.000 cells/mL), subclinical mastitis (SCC above 600.000 cells/mL), and clinical mastitis with signs of inflammatory conditions. Total bacterial count and concentrations of lactose, fat, protein and total solids were also determined. Blood samples were collected for fibrinogen, albumin, and Hp analysis. Results revealed that cows with mastitis had significantly lower concentrations of lactose, fat and total solids, whereas protein, fibrinogen, and Hp values were higher. These last two variables presented no differences in healthy and subclinical mastitis groups. The increase of plasma Hp serum level in cows with low milk SCC was probably due to factors other than an inflammatory condition. Significant positive correlation coefficients were found between milk SCC and plasma fibrinogen ($r=0,27$) as well as plasma Hp ($r=0,36$). Findings from this study were not able to show how Hp values may be useful in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows.

KEYWORDS: Acute phase proteins, fibrinogen, mastitis.

INTRODUÇÃO

A mastite é a principal causa de perdas econômicas nos rebanhos leiteiros com prevalência de 26% (KOSSAIBATI et al., 1998). No Brasil, a incidência de mastite pode atingir 71% das vacas em ordenha nos estados de Minas Gerais e São Paulo (COSTA et al., 1995). A principal causa de perdas por mastites está representada pela forma subclínica da doença que é muito mais difícil de ser diagnosticada (RENEAU & PACKARD, 1991).

O diagnóstico da mastite é feito rotineiramente mediante exame clínico, exame visual do leite, contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT) e cultura de patógenos (GRÖNLUND et al., 2005). No caso de mastite subclínica o diagnóstico torna-se mais difícil devido à ausência de sinais clínicos e de um indicador laboratorial sensível.

As proteínas de fase aguda (PFAs) são secretadas pelo fígado e outros tecidos em resposta a vários estímulos que afetam a homeostasia do sistema imune, particularmente infecções, inflamações e transtornos metabólicos (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2001).

Em vacas, a haptoglobina (Hp) e a amilóide A sérica (SAA) são as principais PFAs (MURATA et al., 2004) com utilidade no diagnóstico de processos inflamatórios com alta sensibilidade (ECKERSALL et al., 2006). Em vacas leiteiras, o monitoramento de PFAs tem sido útil para identificar situações subclínicas, particularmente em afecções mamárias (PETERSEN et al., 2004).

Apesar de considerar a CCS como o padrão ouro para detectar inflamação da glândula mamária (AKERSTEDT et al., 2007), a grande variabilidade deste parâmetro em animais sadios por fatores como idade, início e fim da lactação e sazonalidade, entre outros (SALSBERG et al., 1984), diminuem sua eficiência para distinguir uma vaca com mastite subclínica.

O presente trabalho teve o objetivo de relacionar a concentração plasmática de haptoglobina com a contagem de células somáticas em amostras de leite de rebanhos no Rio Grande do Sul.

MATERIAIS E MÉTODOS

Um total de 150 amostras de leite e suas correspondentes amostras de sangue foram coletadas de vacas de raça Holandesa pertencentes a diferentes rebanhos, independentemente da idade, número de lactações ou número de dias em lactação. O critério de escolha nas amostras de leite foi a contagem de células somáticas (CCS) da forma como a seguir: animais

sadios: CCS <600.000 cél/mL; vacas com mastite subclínica: CCS >600.000 cél/mL sem nenhum sinal clínico e vacas com mastite clínica: qualquer CCS com sinais evidentes de mastite.

As amostras de leite foram coletadas em recipientes usando conservante (bronopol e azidiol). A determinação de CCS e a contagem bacteriana total (CBT) foram realizadas por citometria de fluxo (Somacount, Bentley Instruments). Os componentes químicos do leite (lactose, gordura, proteína e sólidos totais) foram determinados pela técnica do infravermelho (Somacount, Bentley Instruments).

Amostras de sangue foram coletadas usando tubos contendo EDTA mediante venipunção na veia jugular, acondicionadas em caixas de isopor e transportadas até o laboratório. O fibrinogênio foi determinado imediatamente pelo método de precipitação por calor (JAIN, 1993). As amostras de sangue foram centrifugadas e o plasma acondicionado em tubos eppendorf para seu congelamento até a determinação das análises bioquímicas.

A haptoglobina foi determinada usando kit reagente (Phase Haptoglobin, Tridelta). A análise estatística foi realizada com o software SPSS 13.0, aplicando prova de ANOVA e comparação múltipla de Tukey. Os dados totais foram usados para provas de correlação de Pearson entre a concentração plasmática de Hp com outros parâmetros (CCS, CBT e fibrinogênio).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de CCS entre os 3 grupos variaram significativamente, como esperado. Os valores médios de CCS para as vacas sadias foram de 130×10^3 cél/mL, para vacas com mastite subclínica de 1.073×10^3 cél/mL e para vacas com mastite clínica de 4.350×10^3 cél/mL. Também foram diferentes os valores de CBT entre os 3 grupos, que tiveram médias de 90×10^3 UFC/mL para vacas sadias, 1.077×10^3 UFC/mL para vacas com mastite subclínica de 5.783×10^3 UFC/mL para vacas com mastite clínica.

Como resultado da condição sanitária da glândula mamária houve diferenças nos valores dos componentes do leite. A quantidade de lactose teve uma queda gradual e significativa com a diminuição de CCS. PRADA & SILVA et al. (2000) mencionam que o conteúdo de lactose no leite decresce gradualmente com a condição inflamatória da glândula mamária como resultado da síntese diminuída, o aumento da permeabilidade das membranas e a utilização de lactose pelos patógenos intramamários, enquanto que OGOLA et al. (2007) relatam uma queda na lactose em amostras com CCS >500.000 cél/mL. O conteúdo de

gordura não variou significativamente entre os grupos, embora fosse observada uma tendência a diminuir nas vacas com mastites clínica. A quantidade de proteína do leite foi maior nas vacas com mastite clínica.

A concentração plasmática de haptoglobina (Hp) foi maior no grupo de vacas com mastite clínica (0,70 g/L) que nas vacas dos demais grupos (0,41 g/L). Este achado revela que, nas condições do presente trabalho, a concentração de Hp plasmática não seria de utilidade para diferenciar entre vacas sadias e com mastite subclínica. Os resultados sugerem que, em condições de campo, outras causas diferentes da condição sanitária da glândula mamária, estão influenciando os valores de Hp no plasma. ECKERSALL et al. (2001) estudaram a concentração de Hp plasmática em vacas sob condições controladas com mastite induzida encontrando valores de 0,47 g/L em vacas com CCS de 6.400×10^3 cél/mL e de 0,74 g/L em vacas com CCS de 8.700×10^3 cél/mL, mas em vacas sadias os valores de Hp foram indetectáveis. No presente trabalho, contudo, foi encontrada uma correlação significativa entre CCS e valores de Hp ($r= 0,357$) mostrando que a CCS pode ser determinante para o incremento da concentração de Hp, especialmente em vacas com altos valores de CCS.

A concentração de fibrinogênio foi significativamente maior em vacas com mastite (6,50 g/L) comparada com vacas sadias (5,16 g/L) ou com mastite subclínica (5,48 g/L) o que está de acordo com TABRIZI et al. (2008), demonstrando uma resposta do organismo à injúria da glândula mamária.

CONCLUSÃO

A condição sanitária da glândula mamária e, portanto a CCS, é determinante na composição do leite de forma que uma inflamação causa menores valores de lactose e gordura e maiores de proteína total. As concentrações de fibrinogênio e haptoglobina aumentam na mastite clínica, mas seus valores não conseguem distinguir entre animais sadios ou com mastite subclínica. A relação significativa entre CCS e haptoglobina vale a pena ser explorada como ferramenta para o possível papel da haptoglobina no diagnóstico de condições subclínicas ou na avaliação da qualidade do leite.

REFERÊNCIAS

AKERSTEDT, M.; WALLER, K. P.; STERNESJO, A. Haptoglobin and serum amyloid A in relation to the somatic cell count in quarter, cow composite and bulk tank milk samples. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 74, p. 198-203, 2007.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R., WATANABE, E. T., WHITE, C. R., PARDO, R. B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 215-217, 1995.

ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; MCCOMB, C.; HOGARTH, C. J.; SAFI, S.; WEBER, A.; MCDONALD, T.; NOLAN, A. M.; FITZPATRICK, J. L. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. **Veterinary Record**, London, v. 148, p. 35–41, 2001.

ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; NOLAN, A. M.; KNIGHT, C. H.; MCCOMB, C.; WATERSTON, M. M.; HOGARTH, C. J.; SCOTT, E. M.; FITZPATRICK, J. L. Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 1488–1501, 2006.

GRÖNLUND U., SANDGREN C.H., WALLER K.P. Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 36, p. 191 – 198, 2005.

JAIN N. C. 1993. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia, pp. 417.

KOSSAIBATI, M. A.; HOVI, M.; ESSLEMONT, R. J. Incidence of clinical mastitis in dairy herds in England. **Veterinary Record**, London, v. 143, p. 649-653, 1998.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M. D.; CERÓN, J. J. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v. 17, p. 99-116, 2001.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 24-40, 2004.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, Suwon, v. 8, p. 237–242, 2007.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 35, p. 163-187, 2004.

PRADA E SILVA, L. F.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRIÉS, G. A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II. Lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, p. 330-333, 2000.

RENEAU, J. K.; PACKARD, V. S. Monitoring mastitis, milk quality and economic losses in dairy fields. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, Ames, v. 11, p. 4-11, 1991.

SALSBERG, E.; MEEK, A. H.; MARTIN, S. W. Somatic cell counts: associated factors and relationship to production. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ottawa, v. 48, p. 251-257, 1984.

TABRIZI, A. D.; BATAVANI, R. A.; ASRI REZAEI, S.; AHMADI, M. Fibrinogen and ceruloplasmin in plasma and milk from dairy cows with subclinical and clinical mastitis. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 15, p. 571-576, 2008.