

Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos alimentados com colostro de vacas com mastite

Serum protein concentration in newborn calves fed with colostrum from cows with mastitis

Guilherme Gonçalves Fabretti SANTOS¹, Maurício DESCHK¹, André Kielius Guedes SILVA²,
Tatiane Silva PÓLO¹, Márcia MARINHO³, Juliana Regina PEIRÓ⁴,
Luiz Cláudio Nogueira MENDES⁴, Francisco Leydson Formiga FEITOSA^{4*}

¹Pós-graduando do Programa de Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba - SP, Brasil.

²Aluno de iniciação científica e graduando em Medicina Veterinária,
Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba - SP, Brasil

³Departamento de Apoio da Produção e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba - SP, Brasil

⁴Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP de Araçatuba - SP, Brasil

Resumo

O objetivo do presente estudo foi o de avaliar o proteinograma sérico de bezerros alimentados com colostro oriundo de vacas sadias (n = 10), com mastite assintomática (n = 10) e mastite clínica (n = 10). As vacas foram alocadas em seus respectivos grupos de acordo com o exame macroscópico da secreção colostrual, contagem de células somáticas, CMT e isolamento microbiano. As amostras de sangue dos conceptos foram colhidas logo após o nascimento, 24 e 48 horas após a ingestão do colostro dos quartos infectados e dos sadios. Foi avaliada a concentração de proteína total pelo método do biureto e as concentrações de imunoglobulina A (IgA), imunoglobulina G (IgG), transferrina, albumina e haptoglobina por meio da eletrofoerese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Não foram observadas diferenças entre os grupos nas concentrações de albumina, proteína total e IgA. Os bezerros alimentados com colostro de vacas com mastite assintomática e clínica apresentaram teores de haptoglobina superiores aos animais sadios. As concentrações de IgG e transferrina foram significativamente inferiores nos bezerros tratados com colostro de vacas com mastite clínica. Concluiu-se que a ingestão de colostro de quartos sadios e infectados de vacas que pariram com mastite (GII e GIII) não resulta em falha de transferência da imunidade passiva.

Palavras-chave: Transferência de imunidade passiva. Colostro. Mastite. Imunoglobulinas.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the serum protein concentration in newborns fed with colostrum derived from healthy cows (n = 10), cows with subclinical mastitis (n = 10) and cows with clinical mastitis (n = 10). 30 Holstein cows were assigned to their respective groups according to macroscopic examination of colostrum secretion, somatic cell count, CMT and presence of bacteria in colostrum samples. Blood samples of the calves were collected immediately after birth, at 24 and 48 hours after ingestion of colostrum. The total protein was measured by the biuret method and the concentrations of immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG), transferrin, albumin and haptoglobin were determined by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). No differences were observed amongst groups in the concentrations of albumin, total protein and IgA. In animals from cows with subclinical and clinical mastitis haptoglobin concentrations were higher than those of healthy animals. The concentrations of IgG and transferrin were significantly lower in calves from cows with mastitis. We concluded that the ingestion of colostrum from infected and uninfected glands from cows with mastitis (GII e GIII) is unlikely to be an important contributor to the high rate of failure of passive transfer of immunoglobulins in calves.

Keywords: Passive transfer immunity. Colostrum. Mastitis. Immunoglobulins.

Introdução

A mortalidade de bezerros nos primeiros meses de vida é uma das principais causas de prejuízo na bovinocultura mundial, sendo a falha da transferência de imunidade passiva (FTIP) fator de grande contribuição para estas mortes (SELIM et al., 1995; WITTUM; PERINO, 1995). Os bovinos apresentam pla-

Correspondência para:

Francisco Leydson Formiga Feitosa: leydsonf@fmva.unesp.br
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de
Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP/Araçatuba, SP
Rua Clóvis Pestana, 793
16050-680, Jardim Dona Amélia, Araçatuba, SP
e-mail: leydsonf@fmva.unesp.br

Recebido: 25/03/2013

Aprovado: 30/08/2013

centa do tipo sinepteliocorial, que impede a passagem de grande parte das bactérias, vírus e, igualmente, das proteínas séricas, principalmente de imunoglobulinas (TIZARD, 2008). Dessa maneira, os anticorpos são obtidos exclusivamente por meio da ingestão de colostro. Imunoglobulinas, citocinas, leucócitos, hormônios, fatores de crescimento, entre outros, estão presentes na secreção colostrada (CORTESE, 2009; BARRINGTON; PARISH, 2001). A função desses elementos ainda é motivo de muitos estudos, mas sabe-se que tem função de ativar mecanismos de defesa dos neonatos, aumentar a atividade linfocitária, estimular atividade fagocítica e bactericida no trato digestório e implementar a transferência de imunidade passiva (GODDEN, 2008).

As imunoglobulinas são as principais moléculas de defesa encontradas no colostro bovino. Há quatro classes de anticorpos presentes nessa secreção, a saber: IgG₁, IgG₂, IgA e IgM. A principal imunoglobulina no colostro dos bovinos é a imunoglobulina G (IgG), que corresponde a 80-95% dos anticorpos presentes (TIZARD, 2008).

Vários métodos são utilizados para a identificação e quantificação da concentração sérica de anticorpos nos neonatos. O emprego da eletroforese em gel de poli-acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) vem ganhando espaço na medicina veterinária por ser simples e de baixo custo (FAGLIARI et al., 2006). Essa técnica permite a identificação de até 29 frações proteicas no soro sanguíneo (ROCHA, 2010). Além de imunoglobulinas, as proteínas de fase aguda (PFA) também podem ser avaliadas (FAGLIARI et al., 2006). Esse grupo de proteínas tem essa denominação por aumentar ou diminuir sua concentração sérica em resposta a processos inflamatórios, infecciosos ou traumáticos (ECKERSALL et al., 2001; GONZÁLEZ et al., 2008). Porém, essa cinética parece ser diferente entre as espécies animais (GRUYS et al., 2005).

A mastite causada pela invasão de agentes patogênicos na glândula mamária é uma das principais causas da diminuição da produção leiteira. O processo

inflamatório desencadeia o recrutamento de inúmeras células de defesa e mediadores inflamatórios que são responsáveis pela proteção do tecido glandular (RIOLLET; PASCAL; POUTREL, 2000). No rebanho brasileiro, a mastite pode ter prevalência de até 71%. Contudo, a maior porcentagem de perdas pela mastite está associada à forma assintomática da doença (70-80%), cujo diagnóstico é mais difícil (COSTA et al., 1995). A incidência de mastite nos primeiros 21 dias do período seco é cerca de seis vezes maior que aquela observada no período que antecede a lactação. Muitas infecções registradas no período seco cursam sob a forma clínica de mastite na lactação subsequente. Portanto, a fase inicial do período seco é o momento ideal para o estabelecimento do controle da mastite bovina (NEAVE; DODD; HENRIQUES, 1950).

A mastite que ocorre no periparto e no início da lactação é causada, geralmente, pela infecção por *Staphylococcus* sp. (SORDILLO; NICKERSON; AKERS, 1989). Esses agentes causam redução da atividade secretória e síntese das células epiteliais da glândula mamária de vacas pluríparas durante a colostrogênese (MAUNSELL et al., 1998). Maunsell et al. (1999) constataram que o diagnóstico de mastite, no momento do parto, é semelhante ao realizado em animais em plena lactação. O objetivo do presente trabalho foi estabelecer o proteinograma sérico de bezerras que ingeriram colostro oriundo de vacas com mastite.

Material e Método

Foram utilizadas 30 vacas da raça Holandesa, em fase puerperal, com ou sem mastite, provenientes de propriedade leiteira localizada no noroeste do Estado de São Paulo, na região de Araçatuba. Desse modo, foram avaliados três grupos, com dez animais cada: Grupo I (GI) novilhas de primeira cria; Grupo II (GII) vacas pluríparas com mastite assintomática, caracterizada por elevada contagem de células somáticas, isolamento microbiológico positivo e escores positivos ao teste de CMT, e Grupo III (GIII), dez vacas com mastite clínica, apresentando alterações físicas da glândula mamária,

presença de alterações macroscópicas na secreção colostrar, elevada contagem de células somáticas (CCS), isolamento microbiológico positivo e escores positivos ao teste de CMT. Concomitantemente, 30 bezerras, filhos das respectivas vacas, foram acompanhados ao longo das primeiras 48 horas de vida.

As amostras de colostro provenientes dos quartos mamários das fêmeas bovinas recém-paridas foram obtidas logo após a parição. Antes das colheitas serem realizadas, foi efetuada a assepsia do úbere, particularmente dos orifícios das tetas, de acordo com os padrões recomendados no boletim da *International Dairy Federation* (1981). Após a assepsia, os três primeiros jatos de leite foram desprezados em recipiente de fundo escuro.

A prova do CMT foi realizada imediatamente após o parto com o reativo CMT (FATEC®) e o seu resultado foi interpretado conforme Schalm, Carroll e Jain (1971). Uma amostra representativa por quarto mamário, contendo 10 mL de colostro, foi utilizada para a contagem de células somáticas (CCS) no equipamento DCC DeLaval®.

Aproximadamente 3 mL de colostro por quarto mamário foram colhidos em tubo do tipo Falcon estéril, com capacidade de 15 mL e destinados ao isolamento microbiológico. As amostras foram homogeneizadas suavemente e semeadas em meio de ágar sangue de equino desfibrinado e MacConkey, e incubadas a 37°C. As leituras foram realizadas segundo as características macroscópicas das colônias, após 24, 48 e 72 horas de incubação. As culturas consideradas positivas foram as que apresentaram o crescimento de pelo menos três colônias idênticas em um mesmo meio de cultivo, exceto para *S. aureus*, que foi tido como positivo a partir do crescimento de apenas uma colônia (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1999). O isolamento dos microrganismos foi efetuído como preconizado por Quinn, Carter e Markey (1994).

As amostras de sangue dos bezerras colhidas logo após o nascimento, bem como às 24 e às 48 horas de vida, por meio de punção da veia jugular, efetua-

da com agulha para múltiplas colheitas (25 mm X 8 mm) do sistema Vacutainer®, em tubos siliconizados, foram centrifugadas a 1.000G durante 10 minutos.

A concentração sérica de proteína total foi determinada pelo método do biureto, utilizando-se reagente comercial (Labtest®). As leituras foram efetuadas por meio do analisador bioquímico (CELM SB-190®). O fracionamento das proteínas séricas foi realizado com a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) Laemmli (1970). A identificação das proteínas foi realizada com o programa computadorizado Image Quant, GE Health Care®. Foram avaliadas cinco frações proteicas: imunoglobulina A, transferrina, albumina, imunoglobulina G e haptoglobina.

Os dados foram testados quanto à normalidade e as variáveis submetidas à análise de variância, com medidas repetidas. As médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%. Os valores de células somáticas foram transformados em *log* e posteriormente submetidos aos testes estatísticos supracitados. Foi estabelecido o coeficiente de correlação de Pearson entre as variáveis proteína total e IgG, considerando-se significativo os resultados quando $p < 0,05$. Para variáveis categóricas (CMT) foi utilizado o teste de Mann-Whitney. As análises estatísticas foram efetuadas com o programa SAS (Statistical Analysis System) (ZAR, 1999).

Resultados

Os resultados da CCS ($\times 10^3/\text{mL}$) são apresentados na Tabela 1. A CCS dos animais do GII e GIII apresentaram valores superiores aos observados nos animais do GI durante todo o período experimental. Com o passar do tempo, houve diminuição gradativa na CCS, exceto nos animais do GIII, no qual o número de células somáticas permaneceu estável. Às 24 horas do período experimental, a CCS do colostro das vacas do GII e GIII foi semelhante; porém, às 48 horas de vida, os animais do GIII apresentaram os maiores valores entre os grupos avaliados.

Tabela 1 - Valores médios (\bar{x}) e desvios-padrão (S) da contagem de células somáticas (CCS x 10^3 /mL) em amostras de colostro e leite de vacas saudáveis (GI, n = 10), com mastite assintomática (GII, n = 10) e mastite clínica (GIII, n = 10), imediatamente após o parto (0), às 24 e às 48 horas após o referido evento. Araçatuba – SP, 2013

Grupo	CCS ($\bar{x} \pm S$)		
	0 h	24 h	48 h
GI	992,29 \pm 927,00 Ab	550,00 \pm 669,58 Bb	362,96 \pm 506,47 Bc
GII	2735,95 \pm 1677,75 Aa	1681,94 \pm 1159,83 Ba	1407,81 \pm 1149,47 Bb
GIII	3378,63 \pm 2856,93 Aa	2003,13 \pm 1235,39 Aa	1808,93 \pm 884,11 Aa

Médias seguidas de letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si ($p < 0,05$)

O teste do CMT foi realizado com as secreções colostrais de 40 quartos mamários de vacas primíparas, logo após a parição. Em 20 quartos, observou-se resultado levemente positivo (+) – Escore 1, representando a pontuação mais obtida nos animais desse grupo. Contudo, em virtude da elevada concentração de células de defesa, 14 quartos apresentaram reações fortemente positivas (+++) – Escore 3, tornando-se o segundo resultado mais observado.

O resultado de três cruzes foi constatado em 12 (30%) amostras, e de duas cruzes, em outras 10 (25%). Desse modo, no momento do parto, ao menos um quarto mamário por animal apresentava CMT com Escore 2 ou 3. Menos da metade das amostras (45%), no entanto, foi negativa ao teste, ou fracamente po-

sitiva (+). De 40 quartos mamários de animais com mastite clínica avaliados no momento do parto, 21 receberam escore de três, e cinco, de dois, representando, tais resultados, cerca de 65% do total de amostras avaliadas (Figura 1).

Das 120 amostras de leite examinadas, apenas 41 apresentaram cultivo microbiológico positivo, conforme demonstrado na Tabela 2. No GII houve isolamento de número superior de microrganismos quando comparado ao GIII. As alterações macroscópicas foram registradas em 15 secreções colostrais dos animais do GIII. Foram observados grumos, pus ou estrias de sangue, porém, não houve isolamento microbiano em duas amostras.

O isolamento majoritário de *Streptococcus* sp. foi observado em animais que pariram com mastite as-

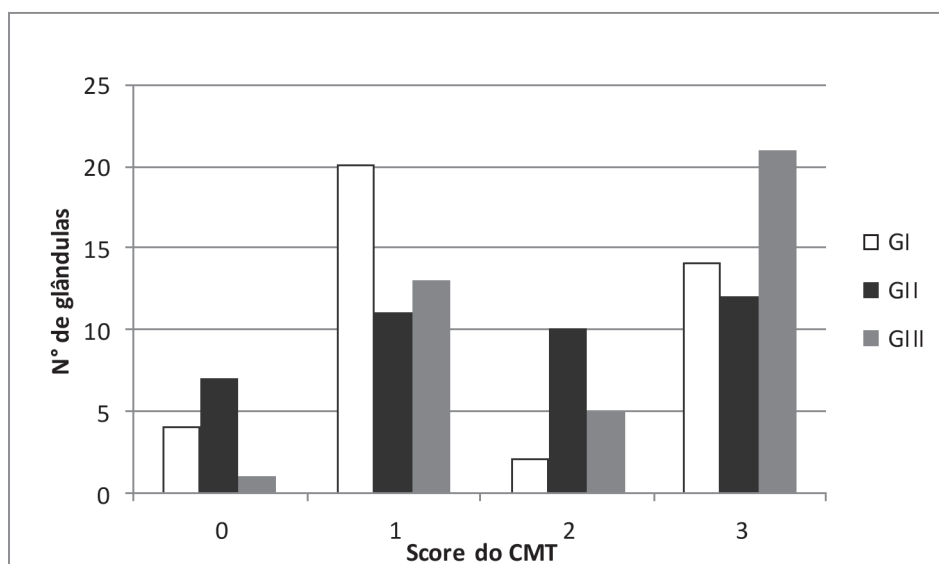


Figura 1 - Representação gráfica dos escores do CMT, em amostras de colostro de vacas primíparas saudáveis (GI), vacas com mastite assintomática (GII) e vacas com mastite clínica (GIII) imediatamente após o parto. Araçatuba – SP, 2013

Tabela 2 - Número (N°), porcentagem (%) e identificação microbiológica em amostras de colostro obtidas de 20 vacas holandesas com mastite assintomática ou clínica. Araçatuba – SP, 2013

Classificação Mastite	Grupo	N° amostras	Quartos infectados (N° e %)	Identificação (N°)
Assintomática	II	40	28 (70%)	<i>Streptococcus</i> sp. (16)
				<i>Staphylococcus intermedius</i> (04)
				<i>Staphylococcus</i> sp. (03)
				<i>Mannheimia haemolytica</i> (02)
				<i>Staphylococcus aureus</i> (01)
				<i>Trueperella</i> sp. (01)
				<i>Bacilos gram</i> – (01)
Clínica	III	40	13 (32,5%)	<i>Streptococcus</i> sp. (05)
				<i>Staphylococcus intermedius</i> (04)
				<i>Staphylococcus</i> sp. (02)
				<i>Staphylococcus aureus</i> (01)
				<i>Bacilos cereus</i> (01)

sintomática quando comparados aos que pariram com mastite clínica, porém, estes não apresentaram anormalidades no exame macroscópico da secreção colostrá. No GIII houve isolamento majoritário de *Staphylococcus* sp. Das 40 amostras de leite obtidas de quartos mamários de vacas que pariram com mastite assintomática, 28 quartos apresentaram isolamento microbiológico. Houve o crescimento de *Streptococcus* sp. em 57,14% (16 quartos) e de *S. intermedius* em 14,28% (4 quartos). Em 40 secreções do GIII, apenas 13 apresentaram cultivo microbiológico positivo. O *Staphylococcus* sp. foi isolado em 53,84% (7 quartos), sendo que o *S. intermedius* foi o agente mais comum (4 quartos). Em um animal do GII foram isolados *Streptococcus* sp. e *Staphylococcus intermedius*, e em outro pertencente ao GIII, foram isolados *Streptococcus* sp. e *Staphylococcus* sp.

Ao longo do período experimental não foi constatada diferença significativa entre os valores de proteína total nos diferentes grupos (Tabela 3). Essa característica também foi verificada entre os momentos avaliados, porém, às 24 e às 48 horas de vida as concentrações foram superiores. Foram constatados menores teores de IgG logo após o nascimento, ou seja, antes da ingestão de colostro. Contudo, os animais que in-

geriram colostro contaminado (GII e GIII) apresentaram valores médios inferiores aos animais do GI, às 24 horas. O teor de IgG, ao final do primeiro dia de vida, apresentou correlação positiva com o teor de proteína total ($r = 0,83$, $p < 0,01$). Houve aumento gradual na concentração sérica dessa proteína ao longo do primeiro dia de vida, o que confirma a sua aquisição com a ingestão de colostro.

Os teores séricos de IgA foram inferiores logo após o nascimento e, de maneira semelhante a IgG, houve elevação em sua concentração às 24 horas após a ingestão do colostro, contudo as diferenças não foram significativas. Os valores médios de transferrina foram mais elevados nos animais do GI. Nas primeiras 48 horas de vida, as concentrações séricas permaneceram inalteradas nos animais do GII e GIII, porém, os animais do GI apresentaram valores médios inferiores ao nascimento e superiores às 24 horas de vida. No nascimento, os valores de albumina foram os de menor valor, contudo, no GIII, a concentração dessa proteína permaneceu constante ao longo do período experimental (Tabela 3). Às 48 horas de vida, os bezerros oriundos das vacas do GII e GIII apresentaram valores séricos de haptoglobina maiores que os do GI. As concentrações séricas dessa proteína, extrema-

Tabela 3 - Média e desvio-padrão dos valores séricos de proteína total (g/dL) imunoglobulina G, imunoglobulina A, transferrina, albumina, haptoglobina (mg/dL) em amostras de sangue de bezerros, filhos de vacas primíparas saudáveis (GI, n = 10), vacas com mastite assintomática (GIII, n = 10) e vacas com mastite clínica (GIV, n = 10), ao nascimento (0), às 24 e às 48 horas de vida. Araçatuba – SP, 2013

Fração proteica	Momento	Grupos estudados		
		GI	GII	GIII
Proteína total (g/dL)	0h	4,05 ± 0,38B	4,30 ± 0,44B	4,24 ± 0,38B
	24h	7,14 ± 1,78A	6,89 ± 0,74A	6,16 ± 0,64A
	48h	7,38 ± 0,52A	7,02 ± 0,83A	6,21 ± 0,68A
IgG (mg/dL)	0h	378,97 ± 189,27 Ba	463,57 ± 62,46 Ba	418,26 ± 112,32 Ba
	24h	2738,87 ± 298,00 Aa	2251,21 ± 88,02 Ab	1876,24 ± 99,48 Ab
	48h	2919,09 ± 449,70 Aa	2274,90 ± 156,96Ab	1898,11 ± 362,78Ab
IgA (mg/dL)	0h	98,87 ± 57,89 B	98,87 ± 31,28 B	102,51 ± 31,70 B
	24h	279,36 ± 76,73 A	270,58 ± 74,56A	235,16 ± 90,15A
	48h	292,20 ± 125,81A	282,08 ± 68,93A	264,62 ± 82,61A
Transferrina (mg/dL)	0h	207,14 ± 56,13 Ba	260,99 ± 60,25Aa	239,84 ± 49,59Aa
	24h	368,02 ± 154,74Aa	240,14 ± 67,13Ab	205,77 ± 64,72 Ab
	48h	336,00 ± 68,94Aba	262,33 ± 46,50Aa	240,42 ± 65,77 Aa
Albumina (mg/dL)	0h	3054,08 ± 415,93B	3107,55 ± 281,82B	3188,94 ± 286,70A
	24h	3451,56 ± 632,35A	3554,89 ± 381,31A	3052,53 ± 155,07 A
	48h	3675,38 ± 337,72 A	3624,84 ± 369,03 A	3257,56 ± 361,86 A
Haptoglobina (mg/dL)	0h	2,52 ± 1,89 Ba	3,80 ± 2,32 Ca	2,68 ± 0,70 Ba
	24h	4,49 ± 0,84 ABc	15,24 ± 3,76 Aa	11,68 ± 0,73 Ab
	48h	7,25 ± 3,76 Ab	10,89 ± 2,24 Ba	12,19 ± 2,55 Aa

Médias seguidas de letras distintas, maiúscula na coluna e minúscula na linha, diferem entre si (p < 0,05)

mente baixas no nascimento, apresentaram elevação às 24 horas, particularmente nos animais do GII.

Discussão

As vacas com mastite assintomática ou clínica apresentaram valores de células somáticas superiores aos sadios ao longo de todo o período experimental (Tabela 1), porém, com o passar do tempo, houve a diminuição gradativa média de tais valores, o que também foi observado por Godden (2008); Maunsell et al. (1999); Birgel Junior (2006); Raimondo et al. (2008). Maunsell et al. (1998) reportaram valores médios de células somáticas para animais sadios no pós-parto de 891.000 células/mL e em animais da raça Holandesa, que pariram com mastite clínica, encontraram valores médios de 4413x10³/mL, o que difere dos valores apresentados no presente trabalho. Entretanto, Ferdowski Nia et al. (2010) constataram que tais di-

ferenças podem depender da intensidade da lesão do parênquima glandular que os animais apresentam no momento do parto.

Maunsell et al. (1999) destacaram que o CMT é útil para a identificação da mastite mesmo nos animais recém-paridos. Deve-se atentar, contudo, que outras características colostrais, tais como a presença de grumos e o isolamento microbiano, também estão associadas à mastite no período em questão. No presente trabalho, apesar de 55% e 65% dos quartos dos animais com mastite assintomática e clínica, respectivamente, terem sido classificados com escores nítida e fortemente positivos (++, +++), e 60% dos quartos avaliados do GI terem apresentado resultados negativos (0) e fracamente positivos (+) (Figura 1), não houve diferença significativa entre dos escores de CMT entre os animais com mastite e sadios (p = 0,23) o que discorda de Maunsell et al. (1999)

que concluíram que escore de CMT ≥ 2 (++ ou +++) no pós-parto imediato é sugestivo de mastite.

Geralmente, as infecções no período seco resultam em casos de mastite clínica no período pós-parto (OLIVER; SORDILLO, 1988). No presente trabalho houve o crescimento bacteriano em 41 quartos mamários (51,25%) (Tabela 2), o que é fortemente sugestivo de que a infecção da glândula mamária tenha ocorrido possivelmente durante o período seco.

A grande quantidade de amostras de colostro dos animais do GIII com cultivo positivo para *Staphylococcus* sp. está de acordo com a literatura compulsada. Fecteau et al. (2002), examinando 234 amostras de colostro, tiveram o isolamento majoritário de *Staphylococcus* sp. De fato, Oliver e Sordillo (1988) observaram que o *Staphylococcus* sp. foi o patógeno mais frequentemente isolado nas mastites de bovinos que ocorrem no período seco. Maunsell et al. (1998) isolaram o *S. hyiucus* na maioria das amostras de animais que pariram com mastite clínica. No presente trabalho, os resultados obtidos com os animais do grupo com mastite assintomática foram concordantes com os de Urech, Puhan e Schallibaum (1999) que concluíram ser o *Streptococcus* sp. um dos principais agentes causadores de mastite assintomática.

Perino, Sutherland e Wollen (1993) consideraram a ocorrência de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) quando às 48 horas de vida os bezerros apresentam valores de proteína total inferiores a 4,2 g/dL. No presente trabalho, os teores médios de proteína total variaram de 6,21 a 7,38 g/dL no referido momento, sendo considerados, de acordo com a classificação acima, satisfatórios para a efetiva proteção do recém-nascido em seus primeiros dias. Borges et al. (2001) observaram valores de proteína em animais com 48 horas de vida e que ingeriram colostro de boa qualidade e em tempo hábil em torno de 7,59 g/dL, resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho. Não foi verificada diferença entre os valores de proteína de animais que ingeriram colostro oriundo de quartos mamários infectados e sadios. Esses resul-

tados discordam dos obtidos por Jonhson et al. (2007), que observaram valores significativamente menores em bezerros que ingeriram colostro contaminado.

A ingestão do colostro não implica necessariamente na transferência adequada de anticorpos, a qual é influenciada pela qualidade do colostro, bem como, pelo intervalo de tempo entre o nascimento e a sua efetiva ingestão (BESSER; GAY, 1994). No presente trabalho, às 24 e às 48 horas, os animais do GII e GIII apresentaram os menores valores de IgG, o que pode ser justificado pela menor disponibilidade de receptores presentes nos enterócitos, em virtude da ligação dos microrganismos a tais receptores, condição referida por Johnson et al. (2007).

Wittum e Perino (1995) admitem que concentrações séricas de IgG menores do que 800 mg/dL, às 24 horas de vida, são indicativas de hipogamaglobulinemia. Os valores médios observados no presente trabalho não indicaram FTIP e a pequena variação observada pode ser relacionada, provavelmente, ao fato de que tanto colostro estéril quanto colostro com cultivo bacteriológico positivo podem ter sido ingeridos simultaneamente por um mesmo animal e, portanto, o colostro estéril pode ter contribuído para a transferência satisfatória de imunoglobulina.

Ao longo do período experimental, os grupos não apresentaram diferença significativa na concentração sérica de IgA. Fagliari et al. (2006), utilizando a técnica de eletroforese SDS-PAGE, observaram valores séricos de bezerros saudáveis da raça Holandesa com 48 horas de vida variando de 262,60 a 409,86 mg/dL, que são semelhantes aos obtidos no presente trabalho. Johnson et al. (2007) constataram padrão sérico similar, com 24 horas de vida, em bezerros alimentados com colostro contaminado e estéril. A IgA representa cerca de 5% do total de imunoglobulinas do colostro (TIZARD, 2008). Por representar pequena parcela do total de anticorpos presentes na secreção colostrual, a alteração em sua concentração é pouco significativa do ponto de vista meramente clínico (JOHNSON et al., 2007).

A transferrina é uma proteína de fase aguda negativa, produzida pelos hepatócitos, e encontra-se diminuída nos processos infecciosos. A hipotransferrinemia resulta na redução dos níveis séricos de ferro, essencial para a replicação bacteriana (GRUYS et al., 2005). Os bezerros do GII e GIII com 24 horas de vida, por ingerirem colostro contaminado, apresentaram baixas concentrações séricas, quando comparados aos animais do GI, porém, com 48 horas de vida os níveis dessa proteína se elevaram nos referidos grupos, apresentando patamares similares ao GI. Knowles et al. (2000), avaliando 14 bezerros de diferentes raças de corte, verificaram diminuição gradual em torno de 25% a 15% nos níveis séricos de transferrina, do nascimento aos três dias de vida, contrariando a cinética dessa proteína observada no presente trabalho. No entanto, Carvalho et al. (2008) observaram uma diminuição marcante nas concentrações séricas dessa proteína em animais infestados por carrapatos, os quais, por sua vez, apresentavam diminuição sérica dos níveis de ferro.

A albumina é uma proteína de fase aguda negativa, que apresenta uma diminuição da concentração sérica em resposta aos processos inflamatórios crônicos (ECKERSALL, 2008). Portanto, o curto período experimental avaliado no presente trabalho não foi suficiente para a constatação de possíveis alterações séricas entre os grupos. González et al. (2008) observaram redução dos valores séricos de albumina em cabras submetidas à inflamação experimental dois dias após a indução do estímulo e o retorno à sua concentração normal no terceiro dia, contrariando os resultados descritos no presente trabalho. Tendo em vista que as PFA apresentam respostas diferentes entre as espécies animais (GRUYS et al., 2005), é provável que a cinética da referida proteína dos pequenos ruminantes seja distinta daquela observada em bovinos.

A haptoglobina é a glicoproteína de fase aguda mais utilizada em ruminantes como preditora de proces-

so inflamatórios agudos. Essa proteína, em bovinos, é quase inexistente ao nascimento. O seu aumento é inerente à gravidade da lesão inflamatória, podendo a sua concentração aumentar em até 100 vezes nessas circunstâncias (ECKERSALL et al., 2001; ECKERSALL; CONNER, 1988). Os animais do GII apresentaram valores superiores aos animais do GIII, às 24 horas de vida, possivelmente pelo maior número de microrganismos isolados nas secreções colostrais das vacas do GII em comparação ao GIII. Apesar de esta proteína de fase aguda aumentar a sua concentração em poucas horas após o desencadeamento do estímulo inflamatório e retornar aos patamares normais entre sete e dez dias (COLE; RUSSEL; WHITNEY, 1997), no presente trabalho não houve diferença entre os dois grupos mencionados, às 48 horas de vida. De fato, os resultados obtidos foram inferiores aos encontrados por Fagliari et al. (2006); Eckersall e Conner (1988). Porém, às 48 horas de vida, houve diferença significativa entre o GI e os outros dois grupos, com elevação dos valores, provavelmente em decorrência da ingestão de colostro contaminado por bactérias e/ou da resposta da glândula mamária ao processo inflamatório (HISS et al., 2004; JOHNSON et al., 2007).

Conclusão

Os resultados do proteinograma sérico de bezerros alimentados com colostro oriundo de vacas com mastite apresentaram teores de transferrina, IgG e haptoglobina distintos dos observados em animais que receberam colostro de vacas sadias. A ingestão de colostro de vacas com mastite pelos bezerros não se constituiu, aparentemente, em fator determinante para a ocorrência de falha de transferência de imunidade passiva.

Agradecimentos à FAPESP pelo auxílio financeiro processo nº 2010/12256-1.

Referências

- BARRINGTON, G. M.; PARISH, S. M. Bovine neonatal immunology. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 17, n. 3, p. 463-476, 2001.
- BESSER, T. E.; GAY, C. C. The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 10, n. 1, p. 107-117, 1994.
- BIRGEL JUNIOR, E. H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Gir e Girolando criados no Estado de São Paulo**. 2006. 335 f. Tese (Livro Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- BORGES, A. S.; FEITOSA, F. L. F.; BENESI, F. J.; BIRGEL, E. H.; MENDES, L. C. N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 5, p. 629-634, 2001.
- CARVALHO W. A.; BECHARA G. H.; MORE, D. D.; FERREIRA, B. R.; SILVA, J. S.; SANTOS, I. K. F. M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: distinct acute phase proteins vary during infestations according to the genetic composition of the bovine hosts, *Bos taurus* and *Bos indicus*. **Experimental Parasitology**, New York, v. 118, p. 587-591, 2008.
- COLE, D. C.; RUSSEL, A. J.; WHITNEY, M. S. Interpreting a bovine CBC: evaluation the leukon and acute-phase proteins. **Veterinary Medicine**, London, v. 92, n. 5, p. 470-478, 1997.
- CORTESE, V. S. Neonatal immunology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 25, n. 1 p. 221-227, 2009.
- COSTA, E. O.; MELEVILLE, 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**, v. 17, p. 215-217, 1995.
- ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G.; Bovine and canine acute phase proteins. **Veterinary Research Communications**, v.12, n.2, p.169-178, 1988.
- 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**, v.148, n. 2, p. 35-41. 2001.
- ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 117-155.
- FAGLIARI, J. J.; RIZOLLI, F. W.; SILVA, S. L.; SILVA, D. G. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida- Comunicação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 450-453, 2006.
- FECTEAU, G.; BAILLARGEON, P.; HIGGINS, R.; PARÉ, J.; FORTIN, M. Bacterial contamination of colostrum fed to newborn calves in Québec dairy herds. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 43, n. 7, p. 523-527, 2002.
- FERDOWSKI NIA, E.; GHORBANI, G. R.; RAHMANI, H. R.; ALIKHANI, M.; MOHAMMAD ALIPOUR, M.; NIKKHAH, A. Increased colostrum somatic cell counts reduce pre-weaning calf immunity, health and growth. **Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition**, v. 94, n. 5, p. 628-634, 2010.
- GODDEN, S. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, v. 24, n. 1, p. 19-39, 2008.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; TECLES, F.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TVARIJONAVICIUTE, A.; SOLER, L.; CERÓN, J. J. Acute phase protein response in goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, n. 5, p. 580-584, 2008.
- GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NIEWOLD, T. A.; KOOPMANS, S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal of Zhejiang University**, v. 6B, n. 11, p. 1045-1056, 2005.
- HISS, S.; MIELENZ, M.; BRUCKMAIER, R. M.; SAUERWEIN, H. Haptoglobin concentrations in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary Hp mRNA expression. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3778-3784, 2004.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Laboratory methods for use in mastitis work. **Bulletin of IDF**, v. 132, p. 1-27, 1981.
- JOHNSON, J. L.; GODDEN, S. M.; MOLITOR, T.; AMES, T.; HAGMAN, D. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 11, p. 5189-5198, 2007.
- KNOWLES, T. G.; EDWARDS, J. E.; BAZELEY, K. J.; BROWN, S. N.; BUTTERWORTH, A.; WARRISS, R. D. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. **Veterinary Record**, v. 147, n. 21, p. 593-598, 2000.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.
- MAUNSELL, F. P.; MORIN, D. E.; CONSTABLE, P. D.; HURLEY, W. L.; McCOY, G. C.; KAKOMA, I.; ISAACSON, R. E. Effects of Mastitis on the volume and composition of colostrums produced by Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1291-1299, 1998.
- MAUNSELL, F. P.; MORIN, D. E.; CONSTABLE, P. D.; HURLEY, W. L.; McCOY, G. C. Use of mammary gland and colostrum characteristics for prediction of colostrum IgG1 concentration and intramammary infection in Holstein cows. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 214, n. 12, p. 1817-1823, 1999.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Laboratory handbook on bovine mastitis**. Arlington: National Mastitis Council, 1999.
- NEAVE, F. K.; DODD, F. H.; HERINQUES, E. Udder infections in the dry period I. **Journal of Dairy Research**, v. 17, n. 1, p. 37-49, 1950.
- OLIVER, S. P.; SORDILLO, L. M. Udder health in the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 9, p. 2584-2606, 1988.
- PERINO, L. J.; SUTHERLAND, R. L.; WOLLEN, N. E. Serum gamma glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer immunoglobulin G. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, p. 56-59, 1993.
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. **Clinical veterinary microbiology**. London: Wolfe, 1994. p. 237-242.
- RAIMONDO, R. F. S.; POGLIANI, F. C.; CYRILLO, F. C.; NOGUEIRA, J. S.; BIRGEL JUNIOR, E. H. Avaliação do número de células somáticas do leite de bovinos da raça Jersey durante o primeiro mês de lactação. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 45, n. 6, p. 443-450, 2008.
- RIOLLET, C.; PASCAL, R.; POUTREL, B. Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 7, n. 2, p. 161-167, 2000.

- ROCHA, T. G. **Avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros de vacas da raça Canchim**. 2010. 108 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP, Jaboticabal, 2010.
- SCHALM, O. W.; CARROL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360 p.
- SELIM, S. A.; SMITH, B. P.; CULLOR, J. S.; BLANCHARD, P.; FARVER T. B.; HOFFMAN, R.; DILLING, G.; RODEN, L.; WILGENBURG, B. Serum immunoglobulins in calves: their effects and two easy, reliable means of measurement. **Veterinary Medicine**, v. 90, n. 4, p. 387-404, 1995.
- SORDILLO, L. M.; NICKERSON, S. C.; AKERS, R. M. Pathology of *Staphylococcus aureus* mastitis during lactogenesis: relationships with bovine mammary structure and function. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 228-240, 1989.
- TIZARD, I. R. Imunidade no feto e no recém-nascido. In: TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6. ed. Roca: São Paulo, 2008. p. 233-246.
- URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHALLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 11, p. 2402-2411, 1999.
- WITTUM, T. E.; PERINO, L. J. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 9, p. 1149-1154, 1995.
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 930 p.