

INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE PARTOS NA QUALIDADE IMUNOLÓGICA DO COLOSTRO BOVINO

GOMES, V.*^{1,2}; MADUREIRA, K.M.^{1,2}; BLAGITZ, M.G.²; BAPTISTELLA, F.¹; DELLA LIBERA, A.M.M.P.²; BENESI, F.J.²

1. Faculdade de Medicina Veterinária – Centro Universitário Anhanguera – UNIFIAN/Leme
2. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo – FMVZ/USP

1. INTRODUÇÃO

A placenta bovina do tipo sindesmocorial impede a passagem de anticorpos por via transplacentária durante a gestação. Além disso, os bezerros neonatos possuem sistema imune imaturo ao nascimento, tornando indispensável à transferência de imunidade passiva através da ingestão de colostro (TIZARD, 2002).

O colostro e o leite são compostos de vários fatores nutricionais e elementos imunoprotetores solúveis e celulares, capazes de conferir imunidade contra uma variedade de microorganismos patogênicos (CROSS; GILL, 2000; KORHONEN; MARNILA; GILL, 2000), responsáveis pelos altos índices de morbidade e mortalidade de animais recém-nascidos, reduzindo a produtividade dos rebanhos leiteiros do Brasil e do mundo (RADOSTITS et al., 2007).

Existem alguns fatores associados à qualidade imunológica do colostro, como: realização de ordenhas no período pré-parto, número de ordenhas pós-parto, produção leiteira e número de lactações (RADOSTITS et al., 2007).

Radostits et al. (2007), Smith et al. (2006) e Devery-Poncus e Larson (1983) relataram que a quantidade de imunoglobulinas do colostro aumenta conforme o número de lactações.

As imunoglobulinas presentes no colostro bovinos são: IgG (70-80%), IgM (10-15%) e IgA (10-15%). A IgG tem a função principal de identificar e destruir possíveis patógenos. A IgM serve como primeira defesa nos casos de septicemia e a IgA protege as mucosas, como a parede do intestino, ligando-se à parede intestinal e evitando a adesão de possíveis patógenos à mucosa. Portanto, o efeito da IgA perdura enquanto o bezerro estiver consumindo colostro, pois ela atua na parede interna do intestino (TIZARD, 2002).

A concentração de imunoglobulinas do colostro foi mensurada através da técnica de imunodifusão radial por Devery-Pocius e Larson (1983), que verificaram valores médios de 1.450, 1.430, 1.840, 2.190, e 1.860 mg/dL de IgG1; 380, 340, 390, 380 e 370 mg/dL de IgG2; 310, 340, 310, 360, e 330 mg/dL de IgM, e 47, 29, 43, 48, 52 mg/dL de IgA, respectivamente, em vacas com 01, 02, 03, 04 ou acima de 04 partos.

Na literatura existem poucos trabalhos que avaliaram a quantidade e funções dos leucócitos do colostro bovino, assim como a sua importância na qualidade imunológica do colostro e fatores associados. Devery-Poncus e Larson (1983) verificaram que o fator etário possui influência sobre a maturidade dos linfócitos presentes no colostro bovino.

2. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi determinar a influência do número de partos na qualidade imunológica do colostro bovino, através da mensuração da quantidade de imunoglobulinas das classes G, A e M, assim como a avaliação do número de células e tipos leucocitários observados neste alimento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de colostro foram colhidas de quatro propriedades leiteiras localizadas no interior de São Paulo. Todas as amostras positivas ao exame bacteriológico do colostro foram excluídas desta pesquisa.

Foram utilizados um total de 53 animais. Imediatamente após o parto as fêmeas foram encaminhadas para a sala de ordenha, onde foram realizadas as colheitas das amostras, sempre antes da realização da primeira ordenha pós-parto. Foram anotados os dados relativos ao número de partos de todas as fêmeas doadoras de colostro.

Para a colheita das amostras de colostro, precediam-se a limpeza e desinfecção dos tetos, com uso de água e hipoclorito, secagem dos mesmos com papel toalha, e desinfecção dos orifícios dos tetos com etanol a 70%.

As amostras foram colhidas em tubos Falcon estéreis com capacidade de 50mL, nos quais foram adicionados 20mL de colostro puro e transportados até o laboratório sob refrigeração à aproximadamente 4°C, acondicionados em caixa de material isotérmico imersas em gelo triturado.

No laboratório, as amostras foram divididas em três alíquotas, em condições assépticas, disponibilizando 1mL de colostro em frasco de vidro com capacidade de 5mL, acrescido de 1mL de solução salina tamponada (PBS), destinado à análise citológica quantitativa da secreção láctea; 1mL de colostro em tubos Falcon com capacidade de 50mL, acrescidos de 49mL de PBS, para análise citológica qualitativa; e 10mL de colostro em tubos Falcon com capacidade de 15 mL, para a obtenção do soro colostrado, utilizado para a determinação dos teores de imunoglobulinas.

Os leucócitos do colostro foram contados utilizando microscopia direta, segundo procedimentos descritos por Prescott e Breed (1910). Para a avaliação do número de células, foram contados 100 campos microscópicos em aumento de 1000X. O resultado da contagem de cada amostra foi multiplicado pelo fator do microscópio e por dois, em função da diluição inicial da amostra, obtendo-se o valor do número de células/mL de colostro. Durante a realização das contagens, os fagócitos foram diferenciados em mononucleares e polimorfonucleares.

Para a análise citológica qualitativa do colostro, foi realizada a contagem diferencial dos leucócitos pela técnica da citocentrifugação adaptada de Della Libera et al. (2004).

Para a determinação das imunoglobulinas presentes no colostro, o tubo Falcon estéril contendo 10 mL de colostro puro foi centrifugado a 3.600 rpm durante uma hora. Após centrifugação, desprezou-se a camada de gordura, o sobrenadante (soro do colostro) foi separado e armazenado em microtubos plásticos. Uma alíquota do soro do colostro foi congelada a -20°C e utilizada para a determinação das taxas de imunoglobulinas das classes IgG, IgM e IgA do colostro bovino através do método de imunodifusão radial simples utilizando

Kit comercial “Radial Immunodiffusion (RID) Kits” da marca VMRD® (MANCINI et al., 1965). A quantificação de imunoglobulinas foi realizada comparando-se a intensidade de reação das amostras com aquela obtida a partir do padrão de imunoglobulina com teor pré-estabelecido. Os valores obtidos foram multiplicados pela diluição do soro do colostro, obtendo-se os valores de imunoglobulinas/mL de colostro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores medianos dos fagócitos mononucleares, polimorfonucleares e fagócitos totais obtidos, respectivamente, nas vacas com 1 a 5 partos estão representados na Tabela 1. Não foram observadas diferenças entre o número de fagócitos totais, mononucleares e polimorfonucleares, conforme o número de partos.

Os valores relativos dos tipos leucocitários presentes no colostro bovino de primeira ordenha e de acordo com o número de partos estão representados na Tabela 2. Considerando os valores relativos de todos os tipos leucocitários presentes no colostro, não foram observadas diferenças significativas, considerando-se o número de partos ($P > 0,1$).

Considerando os resultados encontrados, pôde-se observar que não existem diferenças na quantidade e tipo de células encontradas no colostro bovino, conforme o número de partos.

Tabela 1 – Valores medianos (células/mL de colostro) dos leucócitos mononucleares, polimorfonucleares e leucócitos totais presentes no colostro de primeira ordenha de vacas Holandesas de acordo com o número de partos.

Número de partos	PB Mono	PB PMN	PB Total
1	717.771 ^A	178.550 ^A	914.176 ^A
2	664.206 ^A	149.982 ^A	878.466 ^A
3	1.260.563 ^A	203.547 ^A	1.460.539 ^A
4	678.490 ^A	239.257 ^A	885.608 ^A
5	578.502 ^A	207.118 ^A	785.620 ^A
Significância	$P > 0,1$	$P > 0,5$	$P > 0,2$

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças estatísticas entre si.

Tabela 2 – Valores relativos (%) dos diferentes tipos leucocitários (Ne – neutrófilos; Li – Linfócitos; MO + EP – Monócitos + Células Epiteliais) presentes no colostro de primeira ordenha de vacas da raça Holandesa, de acordo com o número de partos.

No de partos	Ne	Li	MO+EP	Eosi
1	4,5 ^A	20,8 ± 12,0 ^A	74,4 ± 12,0 ^A	0 ^A
2	10,0 ^A	13,0 ± 10,3 ^A	64,4 ± 23,3 ^A	0 ^A
3	4,0 ^A	22,0 ± 11,1 ^A	66,3 ± 9,5 ^A	0 ^A
4	4,0 ^A	15,2 ± 3,4 ^A	76,7 ± 9,6 ^A	0 ^A
5	6,0 ^A	14,6 ± 4,6 ^A	72,0 ± 13,1 ^A	0 ^A
Significância	P>0,1	P>0,2	P>0,4	P>0,8

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças estatísticas entre si.

Os valores médios de Imunoglobulinas (Ig) das classes G, A, M e totais obtidos no colostro bovino de primeira a quinta lactação estão apresentados na Tabela 3. As IgG e as Imunoglobulinas totais apresentaram maiores valores nos animais com 4 partos e menores valores em animais com 2 e 3 partos ($P < 0,04$). As IgA apresentaram maiores valores nos animais com 4 partos e menor em animais com 1 parto ($P < 0,003$) e não houve diferenças nas dosagens de IgM em relação ao número de partos ($P > 0,5$).

No presente trabalho constatou-se uma maior concentração de imunoglobulinas das classes G, A, e imunoglobulinas totais, nas amostras de colostro obtidas de vacas de quarta lactação, concordando com os dados de Devery-Pocius e Larson (1983).

Foi possível observar menores valores de imunoglobulinas em vacas com menor número de lactação, quando comparadas com vacas mais velhas, o que pode acontecer em virtude da menor quantidade de colostro produzido por estes animais, em virtude do pouco desenvolvimento da glândula mamária. A maior produção leiteira encontra-se ao redor da quarta lactação, o que poderia levar aos maiores níveis de imunoglobulinas nesta fase da vida das fêmeas bovinas. Além disso, a baixa concentração destas imunoglobulinas no soro, assim como o transporte inadequado destas à glândula mamária poderia limitar os valores encontrados no colostro de vacas jovens (DEVERY-POCIUS; LARSON, 1983).

Tabela 3 – Concentração (mg/dL de colostro) das classes de imunoglobulinas nas amostras de colostro bovino, obtidas de acordo com o número de partos - São Paulo – 2008

Nº de partos	IgG	IgA	IgM	Ig Total
1	10.640 ± 1972 _{AB}	180,0 ± 44,7 ^B	720,0 ± 178,9 _A	11.540 ± 1843 _{AB}
2	9422 ± 2273 ^B	488,9 ± 247,2 _{AB}	555,6 ± 240,4 _A	10.467 ± 2317 _B
3	6400 ± 0 ^B	450,0 ± 495,0 _{AB}	600,0 ± 282,8 _A	7450 ± 212 ^B
4	12.950 ± 4079 _A	742,9 ± 151,2 _A	650,0 ± 207,0 _A	14.250 ± 4249 _A
5	11.000 ± 2546 _{AB}	-	400,0 ± 0,0 ^A	11.200 ± 2263 _{AB}
Significância	P<0,05	P<0,003	P>0,5	P<0,04

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças estatísticas entre si.

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados, pôde-se concluir que a idade da vaca e número de partos interfere na qualidade imunológica do colostro bovino, pela maior quantidade de imunoglobulinas das classes G e A em animais com maior número de lactação. No entanto, não foi possível observar diferenças no número e tipo de células, conforme o número de partos, porém não foram avaliadas as funções dos leucócitos do colostro, que não exclui a interferência destas células na qualidade imunológica deste alimento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CROSS, M. L.; GILL, H. S. Immunomodulatory properties of milk. *British Journal of Nutrition*, v. 84, p. S 81-S89, 2000. Supplement, 1.

DELLA LIBERA, A. M. M. P.; ARAÚJO, W. P.; SATIKO, S. S.; ROSENFELD, A. M. F.; BIRGEL, E. H. Citologia do leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) híidas, criadas no estado de São Paulo, Brasil. *Ciência Rural*, v. 34, n. 04, p. 1087-1092, 2004.

DEVERY-POCIUS, J. E.; LARSON, B. L. Age and previous as factor in the amount of bovine colostrum immunoglobulins. *Journal Dairy Science*, v. 66, p. 221-226, 1983.

KORHONEN, H.; MARNILA, P.; GILL, H. S. Milk immunoglobulins and complement factors. *British Journal of Nutrition*, v. 84, p. S75-S80, 2000. Supplement, 1.

MANCINI, G.; CARBONARA, A. O.; HEREMANS, J. F. Immunochemical quantitation of antigens by simple radial immunodiffusion. *Immunochemistry*, v. 2, p. 235, 1965.

PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. *Journal of Infection Disease*, n. 7, p. 632-640, 1910.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*, 10 th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007.

TIZARD, I. R. *Imunologia veterinária: uma introdução*. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002, 532 p.