

COMPARAÇÃO DO PROTEINOGRAMA E DA ATIVIDADE DA GAMAGLUTAMILTRANSFERASE NO SORO SANGÜÍNEO DE BEZERROS E DE CABRITOS APÓS INGESTÃO DE COLOSTRO

(COMPARISON OF PROTEINOGRAM AND GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE ACTIVITY IN SERUM FROM CALVES AND KIDS AFTER INTAKE OF COLOSTRUM)

(COMPARACIÓN DEL PROTEINOGRAMA Y DE LA ACTIVIDAD DE LA GAMAGLUTAMILTRANSFERASE EN EL SUERO SANGÜÍNEO DE BECERROS Y DE CABRITOS DESPUÉS DE LA INGESTIÓN DE CALOSTRO)

F. L. F. FEITOSA¹, L. C. N. MENDES¹, J. R. PEIRÓ¹, P. C. CIARLINI¹,
F. J. MARQUES², L. TAKADA³, S. H. V. PERRI¹

RESUMO

Foi estudado o proteinograma sérico e a atividade da gamaglutamiltransferase (GGT) de 15 bezerros e 15 cabritos submetidos à ingestão natural de colostro, a partir do nascimento até os 60 dias de vida. A atividade da enzima GGT foi maior na espécie bovina do que na caprina mas, em ambas, os valores foram mais expressivos nos primeiros dias de vida. O teor da proteína total não apresentou diferença significativa em relação à espécie e à faixa etária. A albumina foi a fração predominante no soro a partir de 24 horas após a ingestão de colostro, aumentando, nos bezerros, a partir das 48 horas e, nos cabritos, após os 15 dias de idade. Constataram-se os maiores valores da fração alfa globulina às 24 horas de vida nos bezerros; na espécie caprina não foi constatada variação significativa entre as 24 horas até os 60 dias de idade. A fração beta globulina não apresentou diferença entre as espécies e a faixa etária. Às 24 horas de vida, os teores da gamaglobulina nas espécies bovina e caprina foram $1,76 \pm 0,92$ g/L e $1,13 \pm 1,24$ g/L ($p < 0,05$), respectivamente. Observaram-se menores valores da referida fração protéica aos 30 dias em bezerros e por volta dos nove dias nos cabritos. A determinação do proteinograma e da atividade sérica da GGT são excelentes indicadores de transferência de imunidade passiva nesses animais. Os colostros das vacas apresentaram maiores concentrações de imunoglobulinas do que os de cabras.

PALAVRAS-CHAVE : Bezerros. Caprinos. Proteinograma. Colostro. Imunidade passiva.

SUMMARY

The serum protein profile from 15 newborn calves and 15 newborn kids submitted to natural suckling of colostrum. Animals were studied from birth to 60 days of age. The gamma glutamyl transferase activity was higher in calves than in kids, but, in both species, the serum levels were higher in the first days of life. The total serum protein levels had no difference in relation to species and age. The albumin was the predominant fraction in the serum after the consumption of the colostrums, whereas increased levels occurred in calves from 48 hours after the colostrum intake and in kids after 15 days of age. Higher values of alpha globulin fraction in calves were observed at 24 hours of life, but in goats no significant changes were observed from 24 hours of age to 60 days of age. The beta globulin levels had no difference between species and age. At 24 of life, the gamaglobulins levels in calves and kids were 1.76 ± 0.92 g/L and 1.13 ± 1.24 g/L ($p = 0.3150$), respectively. Lower values were observed at 30 days of age in calves and around 9 days of age in kids. The determination

¹ Médico Veterinário, Doutor, Professor Assistente, UNESP, Campus de Araçatuba / Autor para correspondência leydsonf@fmva.unesp.br / Rua Clóvis Pestana, 793 CEP 16050-680, Araçatuba-SP.

² Acadêmica de Medicina Veterinária, UNESP, Campus de Araçatuba-SP.

³ Médica Veterinária, Estagiária, UNIFENAS, Alfenas-MG.

of serum protein profile and GGT are excellent indicators of passive immunity transfer in calves and kids. Colostrums from cattle had higher concentrations of immunoglobulins than that from goats.

KEY-WORDS: calves, caprine, protein profile, colostrum, passive immunity

RESUMEN

Fueron estudiados el proteinograma sérido y la actividad de la gama glutamil transferasa (GGT) de 15 becerros y 15 cabritos después de la ingestión natural de calostro, a partir del nacimiento hasta los 60 días de vida. La actividad de la enzima GGT en la especie bovina fue mayor a la observada en la caprina, pero en las dos los valores fueron más expresivos en los primeros días de vida. La concentración de proteína total no presentó diferencia significativa con relación a la especie ni a la edad. La albúmina fue la fracción predominante en el suero a partir de las 24 horas después de la ingestión de calostro, aumentando en los becerros a partir de las 48 horas y en los cabritos después de los 15 días de edad. Los mayores valores de alfa globulina fueron constatados a las 24 horas de vida en los becerros. En la especie caprina no se constató variación significativa entre las 24 horas y los 60 días de edad. La fracción beta globulina no presentó diferencia entre las especies ni entre las edades. A las 24 horas de vida las concentraciones de gamma globulina en las especies bovina y caprina eran $1,76 \pm 0,92$ g/L y $1,13 \pm 1,24$ g/L ($p < 0,05$), respectivamente. Fueron observados valores menores de esa fracción proteica a los 30 días en becerros y alrededor de los nueve días en los cabritos. La determinación del proteinograma y de la actividad sérica de la GGT son excelentes indicadores transferencia de inmunidad pasiva en esos animales. El calostro de las vacas presentó mayores concentraciones de inmunoglobulinas que el de las cabras.

PALABRAS-CLAVE: Becerros. Caprinos. Proteinograma. Calostro. Inmunidad pasiva.

INTRODUÇÃO

A proteção do neonato é adquirida da mãe na forma de anticorpos e é passada pré-natalmente, pós-natalmente, ou de ambas as formas. Há, por essa razão, duas maneiras de transferência de anticorpos maternos: placentar e intestinal. A transferência de imunoglobulinas através da placenta não costuma ocorrer em bezerros, cordeiros, leitões ou potros (RADOSTITS et al., 2000). Os anticorpos de origem materna transferidos ao neonato pelo colostro são essenciais à sua sobrevivência, já que ele necessita de um maior tempo para formular uma resposta específica e eficiente a um determinado desafio externo (EDWARDS et al., 1982).

Borges (1997) observou um predomínio da fração albumina em bezerros, antes da ingestão do colostro e um claro aumento da gama e betaglobulinas, após o seu fornecimento. Fagliari et al. (1996) realizaram o fracionamento eletroforético do soro de 140 bezerros, durante o período do primeiro ao sexto dia de vida, observando uma baixa concentração sérica de gamaglobulinas nas primeiras seis horas de vida ($0,56 \pm 0,27$ g/dL). A taxa dessa fração apresentou uma intensa elevação após a ingestão de colostro, alcançando nível máximo 24 a 30 horas após o nascimento ($2,08 \pm 0,40$ g/dL).

Bouda et al. (1980) constataram elevadas atividades séricas de gamaglutamiltransferase (GGT) em bezerros alimentados com colostro. Entretanto, Thompson e Pauli

(1981) reportaram que a atividade de GGT em bezerros recém-nascidos sadios, que ingeriram um volume adequado de colostro e em tempo hábil, era cerca de 60 vezes maior do que a detectada em animais adultos sadios; essa intensa atividade enzimática permanecia assim, até a quinta semana de vida, declinando, a seguir, para valores considerados padrões para os animais dessa espécie. Os autores concluíram que a grande atividade de GGT, no soro de bezerros recém-nascidos, era conseqüente à absorção integral das moléculas da enzima presentes no colostro. É presumível que o mesmo ocorra, também, em caprinos. A determinação da GGT, desde então, passou a ser feita visando detectar falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em neonatos da espécie bovina. No entanto, poucos estudos foram realizados nessa espécie no que tange ao estabelecimento da atividade enzimática da GGT, principalmente, em caprinos neonatos.

OBJETIVOS

O presente experimento teve como objetivos determinar o proteinograma e a atividade da gamaglutamiltransferase sérica de bezerros e cabritos e a especificidade de cada um sobre o grau de transferência de imunidade passiva, comparando as diferenças das variáveis obtidas com relação às espécies estudadas (bovina e caprina) e a idade do animal, correlacionando-as, ainda, com a morbidade e a mortalidade dos animais,

bem como com a qualidade colostrada das respectivas mães.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 bezerros da raça Holandesa e 15 cabritos, mestiços de Parda Alpina. Os animais foram mantidos em condições padrão de criação e permaneceram com as mães durante um período mínimo de 12 horas, ingerindo colostro “à vontade”, sendo, em seguida, colocados em local apropriado (piquetes próprios).

As amostras de sangue foram obtidas logo após o nascimento (antes da ingestão do colostro), às 24, 48 e 96 h, bem como aos nove, 15, 30, e 60 dias após a ingestão do colostro, por punção jugular. Foram feitas avaliações periódicas dos animais de acordo com as recomendações de Feitosa (2004), sendo os dados, obtidos nos exames físico e/ou subsidiários, anotados em fichas individuais, caso adoessem ou morressem.

A proteína total foi determinada pelo método do biureto, segundo Strufaldi (1987). A migração eletroforética para separação das frações protéicas do soro sanguíneo dos animais que constituíram os grupos experimentais foi efetuada segundo as técnicas descritas por Friedman (1961) e Kremers et al. (1967), utilizando-se fitas de acetato de celulose¹ e leitura das frações em densitômetro².

A atividade sérica da gamaglutamiltransferase (GGT) foi determinada pelo método cinético colorimétrico, recomendado pela International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), usando-se *kit* comercial³, por meio do método contínua-espectrofotométrica (IFCC). A determinação da qualidade do colostro foi realizada pela utilização do aparelho Colostrômetro⁴, o qual fornece uma medida indireta da concentração das imunoglobulinas totais presentes no colostro. Segundo as recomendações da firma fabricante, a qualidade dos colostros estudados foi considerada péssima, intermediária e ótima quando a concentração de imunoglobulinas era de 10 a 30 mg/mL, 31 a 50 mg/mL e 51 a 140 mg/mL, respectivamente.

Os resultados de proteína total, das frações albumina, alfa globulina, beta globulina e gama globulina foram submetidos à análise de variância, com medidas repetidas e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Os valores de GAMA e GGT foram analisados usando o teste de Friedman, para comparar momentos para cada espécie e, o teste de Mann-Whitney, para comparar as espécies em cada momento. Foi feito o teste de correlação entre as espécies e os momentos estudados. O nível de significância adotado foi de 0,05. As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa SAS

(*Statistical Analysis System*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliando-se os valores obtidos para os diferentes componentes sanguíneos, pôde-se constatar que a proteína total não apresentou diferença significativa, levando-se em consideração a espécie e a faixa etária dos animais. No entanto, detectaram-se maiores teores séricos de proteína em bezerros por volta dos nove dias de idade e em cabritos aos 60 dias de vida (Tabela 1). A albumina foi a fração predominante no soro a partir das 24 horas após a ingestão do colostro, aumentando-se, nos bezerros, a partir das 48 horas e, em cabritos, após os 15 dias de idade. Observaram-se os maiores valores da fração alfa globulina às 24 horas de vida nos bezerros. Não foram constatadas variações significativas entre as 24 horas até os 60 dias de idade nos cabritos. A fração beta globulina não apresentou diferenças estatísticas entre as espécies e a faixa etária, apresentando, ao longo do tempo, pequenas oscilações em sua concentração. Às 24 horas, os níveis da gama globulina nas espécies bovina e caprina foram $1,76 \pm 0,92$ g/L e $1,13 \pm 1,24$ g/L, respectivamente. Observaram-se menores valores aos 30 dias em bovinos e por volta dos nove dias na espécie caprina (Tabela 2), contradizendo, em parte, as afirmações de Vihan (1988), que encontrou maiores concentrações da respectiva fração até os cinco dias de vida.

A atividade da gamaglutamiltransferase (GGT) foi enormemente influenciada pela espécie. Enquanto os bezerros apresentavam, às 24 horas, uma atividade sérica enzimática de $722,40 \pm 317,13$ UI/L, os cabritos apresentavam cerca de um terço dos valores séricos mencionados no referido momento ($180,83 \pm 231,98$ UI/L). Este fato provavelmente reflete uma menor transferência da gama globulina do soro materno para o colostro nos últimos dias de gestação e/ou uma menor taxa de absorção pelo trato intestinal dos cabritos. O comportamento da atividade enzimática da GGT também sofreu influência do fator etário; observou-se, à medida que a idade dos animais elevava-se, um decréscimo progressivo e acentuado da atividade da GGT (Tabela 3).

O colostro das cabras apresentava-se menos consistente, mais aquoso e com uma coloração amarelada menos intensa do que o das vacas. Os colostros das vacas que aparentavam possuir uma ótima concentração de imunoglobulinas (51 a 140 g/L), de acordo com as normas de avaliação do fabricante, apresentavam, em maior ou menor intensidade, uma grande viscosidade (cremosa) e uma coloração amarelada forte, lembrando, facilmente, o aspecto de leite condensado. A quantificação de imunoglobulinas presentes no colostro, com a utilização do colostrômetro, mostrou que duas vacas (20%) apresentaram um colostro de péssima qualidade (10-30 g/

¹ CELOGEL – Malta – Milano - Itália

² CELM-DS35, CELM-Barueri-SP

³ GGT , BioSystems, cod.11584

⁴ BIOGENICS - Pennsylvania - USA

Tabela 1 - Valores médios (\bar{x}) e respectivos desvios padrão (s) dos teores séricos de PT (g/L) observados em bezerros e cabritos ao longo de 60 dias de idade.

Momento	Bovinos		Caprinos	
	$\bar{x} \pm s$		$\bar{x} \pm s$	
24 horas	6,33 ± 1,34	^{aA}	5,46 ± 1,38	^{aA}
48 horas	6,31 ± 1,04	^{aA}	5,59 ± 1,19	^{aA}
96 horas	6,43 ± 1,15	^{aA}	5,51 ± 0,81	^{aA}
9 dias	6,25 ± 0,97	^{aA}	5,97 ± 0,82	^{aA}
15 dias	5,76 ± 0,93	^{aA}	5,44 ± 1,00	^{aA}
30 dias	5,74 ± 0,53	^{aA}	5,85 ± 0,66	^{aA}
60 dias	5,88 ± 0,47	^{aA}	6,30 ± 0,77	^{aA}

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

Tabela 2 - Valores médios (\bar{x}) e respectivos desvios padrão (s) dos teores séricos de GAMA (g/L) observados em bezerros e cabritos ao longo de 60 dias de idade.

Momento	Bovinos		Caprinos	
	$\bar{x} \pm s$	Md	$\bar{x} \pm s$	Md
24 horas	1,76 ± 0,92	1,55 ^{aA}	1,13 ± 1,24	0,94 ^{aA}
48 horas	1,65 ± 0,82	1,40 ^{aA}	1,34 ± 1,25	1,09 ^{aA}
96 horas	1,51 ± 0,77	1,35 ^{abA}	1,33 ± 0,83	1,33 ^{aA}
9 dias	1,38 ± 0,65	1,20 ^{abA}	0,82 ± 0,55	0,83 ^{aA}
15 dias	0,94 ± 0,44	0,95 ^{abA}	0,85 ± 0,33	0,84 ^{aA}
30 dias	0,82 ± 0,29	0,80 ^{bA}	1,06 ± 0,51	1,00 ^{aA}
60 dias	0,90 ± 0,41	0,90 ^{abA}	1,35 ± 0,64	1,32 ^{aA}

Medianas seguidas de letras minúsculas, na coluna, e maiúscula, na linha, diferem entre si (P > 0,05).

Tabela 3 - Valores médios (\bar{x}), respectivos desvios padrão (s) e medianas (Md) de GGT (UI/L) observados em bezerros e cabritos ao longo de 60 dias de idade.

Momento	Bovinos		Caprinos	
	$\bar{x} \pm s$	Md	$\bar{x} \pm s$	Md
24 horas	722,40 ± 317,13	760,0 ^{aA}	180,83 ± 231,98	102,94 ^{abB}
48 horas	391,50 ± 295,44	303,5 ^{aA}	176,19 ± 143,77	119,84 ^{abB}
96 horas	257,20 ± 199,59	198,0 ^{abA}	91,56 ± 55,65	78,16 ^{abB}
9 dias	114,30 ± 71,04	96,0 ^{abcA}	51,31 ± 20,78	50,68 ^{abcB}
15 dias	54,10 ± 23,73	50,5 ^{bcA}	33,98 ± 13,13	38,54 ^{bcB}
30 dias	21,50 ± 7,82	19,0 ^{cA}	25,42 ± 11,26	22,90 ^{cA}
60 dias	14,60 ± 12,69	9,5 ^{cA}	23,72 ± 13,69	16,82 ^{cB}

Medianas seguidas de letras minúscula, na coluna, e maiúscula, na linha, diferem entre si (P > 0,05).

L), segundo a classificação adotada pela firma fabricante do aparelho para colostro bovino, enquanto cinco cabras (50%) apresentaram concentrações de imunoglobulinas inadequadas no seu colostro. As variações foram de maior magnitude no colostro das vacas (10 a 140 g/L) do que no das cabras (10 a 70 g/L), o que vem de acordo com as afirmações de Pahud & Mach (1970) que encontraram uma grande variabilidade na concentração de IgG no colostro de pequenos ruminantes, sendo observada uma concentração média de 57 g/L da respectiva imunoglobulina no colostro de cabras. Deve-se salientar, no entanto, que a concepção do colostrômetro pelo fabricante foi voltada para a avaliação do colostro de animais da espécie bovina e não da caprina.

Apesar de a qualidade colostrada ter sido maior e melhor nas vacas do que nas cabras, constatou-se um menor número de animais doentes na espécie caprina (2/15) do que na bovina (5/15). Os cabritos apresentaram, quando da avaliação clínica, somente alterações respiratórias, caracterizadas por dispnéia mista e tosse improdutiva, sendo realizada, em um dos animais, antibioticoterapia sistêmica. Não houve morte no grupo de caprinos estudado. No entanto, cinco bezerros adoeceram durante o período experimental, apresentando, além do quadro respiratório, problemas digestivos associados, principalmente, com a ocorrência de diarreia. Dois dos bezerros doentes morreram apesar da intervenção e acompanhamento veterinário. É difícil encontrar um “valor chave” do teor sérico de imunoglobulina para que ocorra uma efetiva proteção em neonatos, haja vista a grande variedade de espécies e os diferentes manejos adotados. Por exemplo, uma concentração sérica de imunoglobulinas igual ou maior do que 800g/L é considerada adequada para bezerros mantidos em um ambiente higiênico, enquanto é insatisfatório para bezerros mantidos em um ambiente altamente infectado. É relativamente freqüente a observação de níveis elevados de imunoglobulinas em animais que vão a óbito e de diminutas concentrações dessas proteínas em neonatos que permanecem saudáveis. É provável que o menor índice de animais doentes e a ausência de óbitos na espécie caprina estudada tenha ocorrido em virtude de alguns fatores, a saber : a) necessidade de menores concentrações de imunoglobulinas séricas do que a espécie bovina para ocorrer uma efetiva proteção; b) maior rusticidade da espécie em questão e, por fim, c) a permanência dos cabritos em um meio ambiente, antígenicamente, menos rico e agressivo do que o de bezerros.

CONCLUSÕES

1. De maneira geral, com exceção da fração albumina e alfa globulina, as maiores concentrações séricas da proteína total, das frações gama e betaglobulinas e da atividade da gama glutamiltransferase ocorreram nas primeiras horas de vida. Os menores valores da fração gama globulina foram observados por volta dos nove dias de idade em cabritos e aos 30 dias em bezerros, indicando, por ser a fração proteica preferencial para a migração da imunoglobulina G, uma menor proteção imunológica nesse período.
2. A gama glutamiltransferase apresentou uma menor atividade sérica na espécie caprina do que na espécie bovina, demonstrando, entretanto, ser de valor para estimar, indiretamente, os níveis de transferência da imunidade passiva.
3. Exceto a atividade sérica da gama glutamiltransferase, não se observou diferença significativa entre os valores da proteína total e de suas respectivas frações em ambas as espécies e nas diferentes faixas etárias, apesar da diferença da qualidade colostrada entre as cabras e as vacas estudadas.

AGRADECIMENTO

Agradecemos o apoio da FUNDUNESP (Processo 00072/02) pelo auxílio concedido para execução deste trabalho.

ARTIGO RECEBIDO: Janeiro / 2005

APROVADO: Outubro / 2005

REFERÊNCIAS

- BORGES, A. S. Avaliação da eficácia da administração de plasma por via intravenosa, como tratamento da falência de transferência de imunidade passiva em bezerros da raça Holandesa. São Paulo, SP. 1997. 84p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- BOUDA, J., DVORAK, V., MINKSOVA E., DVORAK, R. The activities of GOT, gamma-GT, alkaline phosphatase in blood plasma of cows and their calves fed from bulkets. *Acta Veterinaria Brno*, v.49, n.3-4, p.193-8, 1980.
- EDWARDS, S.A., BROOM, D.M., COLLIS, C. Factors affecting levels of passive immunity in dairy calves. *British Veterinary Journal*, v.138, n.3, p.233-40, 1982.
- 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 gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.48, n.2, p.105-12, 1996.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: ROCA, 2004. 804p.

FRIEDMAN, H. S. A standardized procedure for serum protein electrophoresis on cellulose acetate membrane strips. **Clinica Chimica Acta**, v. 6, p. 775-81, 1961.

KREMERS B., BRIERE R. O., BATASAKIS, J. G. Reflectance densitometry of cellulose acetate protein electrophoresis. **American Journal of Medical Technology**, v.33, n.1, p.28 - 34, 1967.

PAHUD, J. J., MACH, J. P. Identification of secretory IgA, free secretory piece and serum IgA in the ovine and caprine species. **Immunochemistry**, v.7, p. 679-86, 1970.

STRUFALDI, B. **Prática de bioquímica clínica**. São Paulo : Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1987. 399p.

THOMPSON, J.C., PAULI, J.V. Colostral Transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves. **New Zealand Veterinary Journal**, v.29, n.12, p. 223- 46, 1981.

RADOSTITS, O. M., JOE MAYHEW. I. G., HOUSTON, D. M. **Clínica veterinária de grandes animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1737 p.