

CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA NO LEITE DE BÚFALAS COM MASTITE SUBCLÍNICA

Daniela Gomes da Silva^{1*}, André Marcos Santana²,

Thainara Vitoria Carnevalli Sanches¹ e José Jurandir Façliari¹

1- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil. *Autor de correspondência: danisoul-br@yahoo.com.br

2- Universidade Estadual de Maringá - UEM, Umuarama, PR, Brasil

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar as concentrações das proteínas de fase aguda ceruloplasmina, lactoferrina, albumina, haptoglobina e α 1-glicoproteína ácida em amostras de leite de búfalas da raça Jafarabadi. Das 199 amostras avaliadas, 184 (92,46%) apresentaram reação negativa no CMT e 15 (7,54%) amostras apresentaram reação positiva no CMT. As amostras positivas no CMT apresentaram concentrações significativamente maiores das proteínas de fase aguda lactoferrina (67,79 mg/dL), albumina (86,13 mg/dL) e α 1-glicoproteína ácida (1,36 mg/dL) quando comparadas com as concentrações das amostras negativas no CMT, indicando a importância dessas proteínas como biomarcadores da infecção mamária subclínica na espécie bubalina.

SUMMARY

The aim of the study was to evaluate the concentrations of acute phase proteins ceruloplasmin, lactoferrin, albumin, haptoglobin and α 1-acid glycoprotein in milk samples from Jafarabadi buffaloes. Of the 199 samples evaluated, 184 (92.46%) showed a negative reaction in CMT and 15 (7.54%) samples showed a positive reaction in CMT. The positive samples in CMT showed significantly higher concentrations of acute phase proteins lactoferrin (67.79 mg/dL), albumin (86.13 mg/dL) and α 1-acid glycoprotein (1.36 mg/dL) when compared with the concentrations of negative samples in CMT, indicating the importance of these proteins as biomarkers of subclinical mastitis infection in buffalo species.

INTRODUÇÃO

Na mastite subclínica, embora não ocorram mudanças clínicas visíveis no úbere ou na aparência do leite, cursam alterações na concentração dos principais componentes da secreção láctea, decorrentes do aumento da permeabilidade vascular e/ou de lesões nas células produtoras de leite (Kashyap et al., 2019). As proteínas de fase aguda são uma classe de proteínas cuja concentração aumenta ou diminui rapidamente nos processos inflamatórios, em resposta aos estímulos de mediadores químicos liberados por macrófagos e leucócitos durante doenças inflamatórias e infecciosas (Kaneko et al., 2008). Contudo, apesar das proteínas de fase aguda serem utilizadas como biomarcadores de inflamação, infecção e trauma durante décadas na Medicina Humana, ela têm sido relativamente pouco utilizadas na Medicina Veterinária (Eckersall e Bell, 2010). Neste contexto, o estudo de proteínas para o uso como indicadores de inflamação/infecção da glândula mamária pode ser útil na detecção de quartos mamários afetados, no prognóstico da mastite e no monitoramento da recuperação do animal (Pyörälä, 2003). O objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações das proteínas de fase aguda ceruloplasmina, lactoferrina, albumina, haptoglobina e α 1-glicoproteína ácida em amostras de leite de búfalas.

ram mudanças clínicas visíveis no úbere ou na aparência do leite, cursam alterações na concentração dos principais componentes da secreção láctea, decorrentes do aumento da permeabilidade vascular e/ou de lesões nas células produtoras de leite (Kashyap et al., 2019). As proteínas de fase aguda são uma classe de proteínas cuja concentração aumenta ou diminui rapidamente nos processos inflamatórios, em resposta aos estímulos de mediadores químicos liberados por macrófagos e leucócitos durante doenças inflamatórias e infecciosas (Kaneko et al., 2008). Contudo, apesar das proteínas de fase aguda serem utilizadas como biomarcadores de inflamação, infecção e trauma durante décadas na Medicina Humana, ela têm sido relativamente pouco utilizadas na Medicina Veterinária (Eckersall e Bell, 2010). Neste contexto, o estudo de proteínas para o uso como indicadores de inflamação/infecção da glândula mamária pode ser útil na detecção de quartos mamários afetados, no prognóstico da mastite e no monitoramento da recuperação do animal (Pyörälä, 2003). O objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações das proteínas de fase aguda ceruloplasmina, lactoferrina, albumina, haptoglobina e α 1-glicoproteína ácida em amostras de leite de búfalas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 199 amostras de leite de búfalas da raça Jafarabadi, pertencentes a uma propriedade rural localizada na região Nordeste do Estado de São Paulo, obtidas entre o segundo e o sexto mês de lactação. O trabalho de pesquisa foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº18957/15). Antes da colheita das amostras de leite foi realizado o

Tabela 1. Médias e desvios padrão das concentrações das proteínas de fase aguda ceruloplasmina, lactoferrina, albumina, haptoglobina e α_1 glicoproteína ácida (mg/dL), pela técnica SDS-PAGE, em amostras de soro lácteo de búfalas de acordo com o resultado do CMT.

Proteína (mg/dL)	CMT negativo	CMT positivo
ceruloplasmina	0,23 \pm 0,58 ^A	0,32 \pm 0,67 ^A
lactoferrina	32,21 \pm 32,10 ^A	67,79 \pm 39,99 ^B
albumina	71,52 \pm 39,33 ^A	86,13 \pm 28,48 ^B
haptoglobina	0,49 \pm 1,60 ^A	0,96 \pm 2,64 ^A
α_1 glicoproteína ácida	0,66 \pm 0,95 ^A	1,36 \pm 1,69 ^B

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste t de Student ($P > 0,05$) ou pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P > 0,05$)

exame físico da glândula mamária, o teste da caneca de fundo escuro e o *California Mastitis Test* (CMT). Apenas as amostras negativas na prova da caneca de fundo escuro foram selecionadas para o estudo. Imediatamente antes da colheita das amostras de leite foi feita a antissepsia dos tetos com álcool 70%. Foram colhidas amostras de 20 mL de leite de cada quarto mamário, em frascos plásticos esterilizados e sem conservante, para a determinação da concentração de proteínas totais (método do biureto) e fracionamento protéico por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Após a colheita, todas as amostras foram acondicionadas e transportadas em caixas isotérmicas com gelo até o laboratório. O soro lácteo, utilizado nas análises laboratoriais, foi obtido coagulando-se as amostras de leite pela adição de 5% de solução de renina (Coalho Estrella) utilizando técnica proposta por Sant'Ana e Birgel (2003). Os resultados das concentrações das proteínas de fase aguda foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de t de Student para comparação entre pares de médias, ao nível de 5% de significância. As variáveis que não apresentaram distribuição normal foram submetidas à análise de variância não paramétrica, utilizando-se o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney, ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 199 amostras avaliadas, 184 (92,46%) apresentaram reação negativa no CMT e 15 (7,54%) amostras apresentaram reação positiva no CMT, sendo que 10 amostras apresentaram reação leve (+), duas amostras apresentaram reação moderada (++) e três amostras apresentaram reação intensa (+++). A baixa ocorrência de mastite subclínica em rebanhos

bubalinos está relacionada a características anatômicas e fisiológicas específicas, que podem conferir maior resistência contra mastite, quando comparada com bovinos (Andrighetto, 2011). Além do estado sanitário da glândula mamária, outros fatores como fase da lactação, ordem de parto, raça, estação do ano e manejo podem afetar o resultado do CMT (Pizauro et al., 2014). Em relação à concentração das proteínas de fase aguda, foram observadas concentrações significativamente maiores de lactoferrina, albumina e α_1 -glicoproteína ácida nas amostras de leite positivas no CMT (Tabela 1). Em decorrência dos processos inflamatórios na glândula mamária ocorrem alterações tanto na concentração dos componentes protéicos do leite como também surgimento de compostos proteicos não elaborados no processo de secreção láctea, devido à destruição do tecido mamário e ao aumento da permeabilidade do sistema circulatório capilar, quando se verifica significativa passagem de constituintes do sangue para o leite (Ceciliani et al., 2012).

CONCLUSÃO

As amostras positivas no CMT apresentaram maiores concentrações das proteínas de fase aguda, especialmente lactoferrina, albumina e α_1 -glicoproteína ácida, indicando potencial uso dessas proteínas como biomarcadores da infecção subclínica da glândula mamária na espécie bubalina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrighetto, C. Cadeia produtiva do leite de búfala - visão da universidade. In: SIMPÓSIO DA CADEIA PRODUTIVA DA BUBALINOCULTURA, 2., 2011, Botucatu. Anais... Botucatu: FEPAF, 2011. Disponível em: <http://www.fmvz.unesp.br/andrejorge/IISCPBubalino_2011_

CD-ROM/II_SCPB_CristianaAndrighetto.pdf>. Acesso em: 1 fev. 2018.

Ceciliani, F; Ceron, JJ; Eckersall, PD; Sauerwein, H. 2012. Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics*. 75(14):4207-4231.

Eckersall, PD; Bell, R. 2010. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Veterinary Journal*. 185(1):23-27.

Kaneko, JJ; Harvey, JW; Bruss, ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th. ed. San Diego: Academic Press. 2008. 916 p.

Kashyap, DK; Giri, DK; Dewangan, G. 2019. Prevalence of sub clinical mastitis (SCM) in she buffaloes at Surajpur district of Chhattishgarh, India. *Buffalo Bulletin*. 38(2):373-381.

Pizauro, LJJ; Silva, DG; Santana, AM; Moraes, SMA; Benincasa, NC; Fagliari, JJ. 2014. Perfil bioquímico, inclusive proteinograma, do soro lácteo de búfalas primíparas e pluríparas sadias ao longo da lactação. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34(supl1):79-86.

Pyörälä, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. 2003. *Veterinary Research*. 34(5): 565-578.

Sant'ana, VAC; Birgel, EH. Obtenção de soro lácteo para fracionamento das proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 5., 2003, Salvador. Anais... Salvador: Associação Brasileira de Buiatria, 2003. p. 31.