

IMUNOGLOBULINAS DO POTRO PURO SANGUE DE CORRIDA (PSC) DO NASCIMENTO AO SEXTO MÊS DE IDADE*

IMMUNOGLOBULINS OF THE THOROUGHBRED FOAL FROM BIRTH UP TO SIX MONTHS OF AGE

Inês Nicoloso Castro da Luz**

José Henrique Souza da Silva***

Carlos Antonio Mondino Silva*****

Flávio Desessards De La Corte**

Joaquin Lopez de Alda****

RESUMO

Sessenta potros PSC foram divididos em dois grupos de acordo com a ocorrência de sinais clínicos de doença. Avaliou-se os níveis de Imunoglobulina (Ig) sérica das 3h até o sexto mês de idade. A TSZ pelo espectrofotômetro ou visualmente indicou bem a Ig determinada por eletroforese. A concentração de Ig decresceu no fim do primeiro mês, tanto nos doentes como nos sadios, elevando-se 1 a 2 semanas após. Isso poderia indicar a passagem da imunidade passiva para a própria. A concentração mínima de Ig de 400mg/dl sugerida na literatura não é compatível com a aqui encontrada nos potros sadios; sugere-se estabelecer um novo nível mínimo de Ig de 800mg/dl. Este pode ser considerado a exigência mínima para avaliação de potros de alto risco, no entanto, não deve ser encarado isoladamente; o ambiente e o manejo parecem desempenhar um papel bem mais importante no contexto da imunidade do que se supunha até o momento.

Palavras-chave: potro, imunoglobulina, imunidade.

SUMMARY

Sixty Thoroughbred foals were divided into two groups according to the occurrence of clinical signs. Their sera Immunoglobulin (Ig) levels were evaluated from 3 hours up to 6 months of age. The ZST-test using either spectrophotometer or naked eye was a good indicator of Ig concentration determined by electrophoresis. Serum Ig decreased at the end of the first month both in healthy and sick foals, rising again

after one to two weeks. This may indicate the passage from passive to own immune response. Minimal sera Ig levels of 400mg/dl suggested elsewhere is not compatible with healthy foals in this work. It is suggested here to set a new minimal level at 800mg/dl. This would be considered the minimal exigence when evaluating high risk foals, but should not be analysed alone; there are strong evidences that husbandry measures and environmental conditions might play important roles in the process.

Key Words: foal, immunoglobulin, immunity.

INTRODUÇÃO

O sistema imunitário do potro está desenvolvido antes do parto. Títulos significativos de Ig sérica nos produtos antes do nascimento sugerem uma estimulação antigênica intra-uterina. Logo após o nascimento, o potro é capaz de produzir uma resposta imunológica. A aplicação de antígeno de *Rhodococcus equi* a partir da primeira semana de vida resulta em resposta imune mensurável através de imunodifusão em agar gel sete dias após sua aplicação (GASKIN, 1990).

Devido a natureza do processo de absorção, níveis máximos de Ig são encontrados no soro dos potros entre 12-24 horas após o nascimento. Esses níveis de anticorpos, na maioria dos casos, parecem desaparecer ao redor dos 5 a 6 meses de idade. Antes disso, o potro torna-se hábil para produzir anticorpos próprios, embora níveis mais altos, semelhantes aos de adultos, não devessem ser encontrados até o 4º - 6º mês de vida (JEFFCOTT, 1974a; MORRIS, 1986). Detecta-se um período de transição, das duas semanas até os quatro

* Financiado pelo Banco Bozano Simonsen S/A.

** Mestre, Médico Veterinário autônomo.

*** Engenheiro Agrônomo, Professor Titular do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria.

**** Médico Veterinário. Haras Santa Maria de Araras - São José dos Pinhais, PR.

***** Médico Veterinário, Professor Titular do Departamento de Clínica de Grandes Animais da Universidade Federal de Santa Maria. 97019-900 - Santa Maria, RS.

meses de vida, onde a imunidade passiva parece decrescer e a ativa começa a surgir (JEFFCOTT, 1974b). A falha na transferência passiva de Ig colostral (FTP) tem sido estimada entre 3 a 25%, e considerada uma causa importante de infecção em potros jovens. Sugeriu-se que quando os níveis de Ig são inferiores a 400mg/dl há uma FTP parcial, e total quando inferiores a 200mg/dl. Potros com níveis superiores a 400mg/dl seriam considerados como tendo níveis adequados de Ig (MC GUIRE et al, 1977). LeBLANC (1990) e STONEHAM et al (1990) sugerem que as bactérias, o manejo, os títulos de anticorpos e a qualidade do meio ambiente são fatores importantes a considerar. Por isso, sob determinadas condições, potros com níveis "adequados" de >400mg de IgG/dl podem se tornar infectados (KOTERBA et al, 1985; SILVA, 1988; SILVA et al, 1988; LeBLANC, 1990; STONEHAM et al, 1990). A determinação das proteínas totais foi feita pelo método do biureto, e a avaliação da Ig pelo teste da TSZ avaliado visualmente e com espectrofotômetro, e pela eletroforese. Procurou-se determinar a variação fisiológica dos níveis de Ig e, se possível, observar em que período ocorreria a transição da imunidade passiva para a ativa.

MATERIAL E MÉTODOS

O soro de 60 potros Puro Sangue de Corrida foi utilizado para avaliação de Ig, dividindo-os, conforme a manifestação de sinais clínicos durante os seis meses de observação, em dois grupos: os que permaneceram saudáveis durante o período e os que adoeceram. Dos 34 animais saudáveis, 17 foram sorteados e seus soros avaliados junto ao dos animais doentes (26).

Logo após o nascimento, o sangue (8ml) foi colhido da veia jugular através de agulhas de colheita múltipla^a com tubos a vácuo às 03, 06, 12, 18 e 24 horas após a primeira mamada e, depois, a cada 7 dias, até o 56º, e a cada 15 até os 176 dias de vida. Retirado o coágulo, a amostra foi centrifugada a 1500g por 10 minutos, sendo uma parte de cada amostra testada pela TSZ^b, segundo McEWAN et al (1970), e o restante armazenado e congelado a -20°C para análise laboratorial. O soro foi descongelado à temperatura ambiente (20-27°C) e dosadas as proteínas séricas pelo método do Biureto^c com leitura em espectrofotômetro^d. A Ig foi avaliada através da eletroforese, utilizando-se uma cuba de corrida eletroforética e seus respectivos aplicadores^e, fitas de acetato de celulose gelatinizadas^f com solução tampão concentrada e reativo E-150^g a 8,4%, com pH 8,6. Os resultados do fracionamento eletroforético foram obtidos em percentagem através da leitura em densitô-

metro^h. Após dosagem das proteínas totais em g/dl, calculou-se a proporção de cada fração protéica.

A prova da TSZ foi realizada novamente no laboratório. Efetuou-se a leitura visual pela comparação com a solução padrão de sulfato de bário. A leitura da TSZ em espectrofotômetro foi feita num comprimento de onda de 420nm.

Realizou-se a análise da variância, o teste de comparação entre médias (Teste Duncan), e estudos de correlação e regressão.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão descritos os valores médios de proteína total, gamaglobulina, unidades de turvação e a avaliação visual da TSZ com seus níveis mínimos e máximos, respectivos desvios padrões da média, coeficientes de variação, valores de F e sua significância, para os potros saudáveis e na Tabela 2 os mesmos dados para os doentes. Para ambos, o menor valor de proteína total foi registrado às 3 horas de vida; as médias aumentaram gradativamente nas primeiras 24 horas e, posteriormente, a partir do 7º até o 176º dia, mantiveram-se estáveis, oscilando de 5,05 a 5,40g/dl nos saudáveis e de 4,87 a 5,70g/dl nos doentes.

A fração gama aumentou significativamente até as 12 horas depois do potro mamar em ambos os grupos. A partir das 12 horas até o 176º dia não houve diferença significativa entre as médias, com exceção das dosagens do 28º ao 35º dia, quando ocorreu nos potros saudáveis (Tabela 1) uma queda significativa nos níveis de imunoglobulinas.

O comportamento das médias da TSZ avaliado visualmente e no espectrofotômetro é semelhante, também, em ambos os grupos (Tabela 1 e 2). Ambos registraram o menor valor às 3 horas de vida e posteriormente tenderam a aumentar. Aos 28 dias se observa a mesma queda significativa da TSZ para os dois métodos de avaliação. Ambos se correlacionam significativamente com a concentração de gamaglobulina determinada através da eletroforese (respectivamente $r=0,32$: $P<0,01$, $r=0,37$: $P<0,01$) e entre si ($r=0,58$: $P<0,01$).

A Figura 1 representa a tendência significativa de que um aumento nas unidades de turvação no soro dos potros representa um aumento proporcional de Ig.

Considerando-se o fator sanidade, observa-se que durante o passar do tempo, houve diferença entre as médias nos quatro parâmetros observados; ou seja, a proteína total, a gamaglobulina e a TSZ analisadas por espectrofotômetro ou visualmente foram estatisticamente diferentes entre os animais saudáveis e doentes (Tabela 3).

TABELA 1 - Comparação entre os valores médios de proteína, gamma globulina, unidade de Turvala e TSZ no sangue dos primates em momentos pré-determinados.

TABELA 2 - Comparação entre os valores médios de Proteína Total, Gamaglobulina, Unidades de Turvação e Avaliação Visual da TSZ no soro sanguíneo dos outros clinicamente doentes, em momentos pré-determinados.

E	M	Proteína Total				Gamaglobulina				Unidades Turvação-TSZ				Avaliação Visual-TSZ				
		P	n	X	ampl.	s	n	X	ampl.	s	n	X	ampl.	s	n	X	ampl.	
H	3	10	3,95e	3,39-4,52	0,37	9	214b	40-630	176	10	14e	6-18	3,9	10	1,50b	1-3	0,67	
O	6	11	4,44de	2,93-5,53	0,77	11	455ab	40-1000	324	11	20bcd	9-29	6,3	11	2,36a	1-3	0,88	
R	12	20	4,63cd	3,86-6,36	0,68	20	571ab	80-1120	358	20	22abcd	4-35	8,2	20	2,35a	1-3	0,85	
A	18	13	4,98abcd	3,39-6,53	0,82	13	779a	90-1760	504	13	26abc	15-33	4,7	13	2,77a	1-3	0,58	
S	24	19	4,94abcd	3,62-7,90	1,10	19	807a	40-2210	537	19	26abc	5-40	8,0	19	2,68a	1-3	0,73	
		7	11	5,35abc	3,86-6,90	0,79	11	744a	150-1350	354	11	25abcd	18-30	4,0	11	2,82a	1-3	0,58
		14	9	5,53ab	4,79-6,19	0,49	9	719a	390-1240	240	9	24abcd	16-31	4,5	9	2,89a	2-3	0,32
		21	9	5,45ab	3,86-6,40	0,75	9	664a	80-1310	328	9	24abcd	19-29	4,0	9	3,00a	3-3	0,00
		28	8	5,57ab	5,10-6,53	0,48	8	746a	310-1220	245	8	20bcde	10-26	5,7	8	2,62a	1-3	0,70
		35	8	5,70a	5,08-6,53	0,42	8	759a	500-1110	222	8	23abcd	11-35	7,4	8	2,88a	2-3	0,33
D	42	8	5,40abc	4,79-6,02	0,44	8	584ab	300-840	159	8	27ab	19-37	4,8	8	3,00a	3-3	0,00	
		49	8	5,66a	4,52-6,70	0,71	8	664a	310-1270	304	8	26abc	19-35	5,0	8	3,00a	3-3	0,00
I	56	7	5,55ab	5,23-5,85	0,21	7	743a	570-940	114	7	28a	21-31	3,6	7	3,00a	3-3	0,00	
		71	7	5,56ab	5,08-6,00	0,28	7	739a	550-880	125	7	24abcd	16-30	5,6	7	3,00a	3-3	0,00
A	86	7	5,27abc	4,79-5,53	0,27	7	519ab	220-1000	275	7	25abcd	19-37	6,1	7	3,00a	3-3	0,00	
		101	7	5,46ab	5,08-5,85	0,27	7	683a	560-910	110	7	23abcd	16-27	4,5	7	2,86a	2-3	0,35
S	116	7	5,17abcd	4,79-5,53	0,28	7	500ab	290-770	157	7	21abcd	15-27	4,3	7	2,57a	1-3	0,73	
		131	7	5,26abc	5,08-5,53	0,17	7	593ab	350-770	145	7	20bcde	17-23	2,4	7	2,86a	2-3	0,35
		146	6	5,18abcd	4,92-5,53	0,21	6	565ab	410-790	140	6	20bcde	18-21	0,8	6	3,00a	3-3	0,00
		161	6	5,19abcd	4,38-5,68	0,41	6	497ab	260-670	145	6	19cde	18-22	1,4	6	3,00a	3-3	0,00
		176	6	4,87bcd	4,38-5,40	0,45	6	663a	350-1280	310	6	18de	15-24	3,8	6	2,83a	2-3	0,37
X Geral			5,12					639				23			2,71			
F			4,43**									1,72**			2,90**		3,71**	
CV			13,00					52,49				25,93			21,31			

** P<0,01. Médias seguidas de letras diferentes apresentam diferença significativa.
 Proteínas Totais: g/dl
 Gamaglobulina: mg/dl
 Avaliação Visual: 1 < P; 2 = P; 3 > P

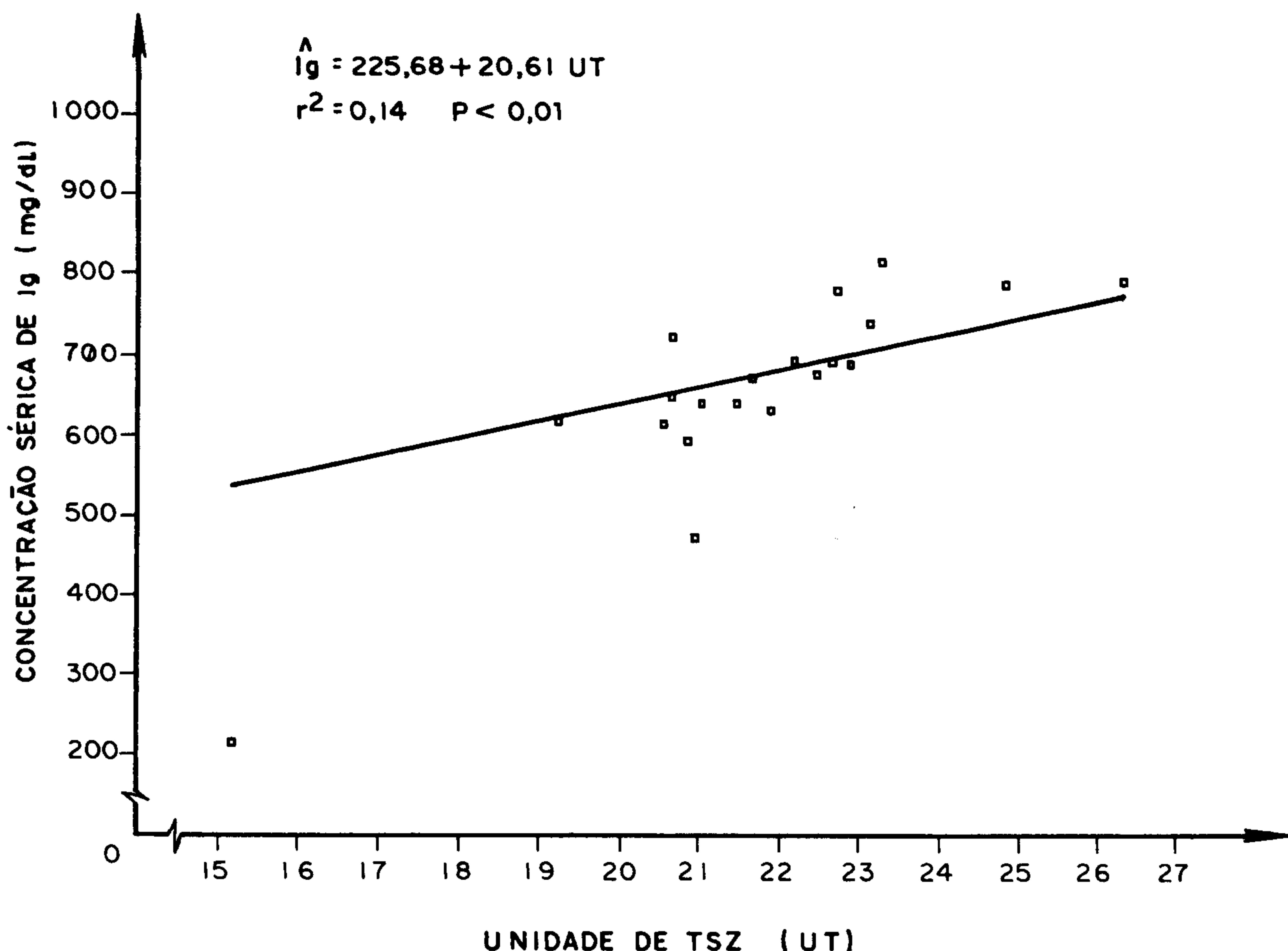


FIGURA 1 - Relação entre as unidades de turvação pela TSZ e os níveis de gamaglobulina no soro dos potros desde a ingestão do colostro até o sexto mês de idade.

TABELA 3 - Análise da variância dos valores de proteínas totais, gamaglobulinas e TSZ entre os animais clinicamente saudos e doentes.

SANIDADE	Proteínas Totais	Gamaglobulinas	Espectrofotômetro-TSZ	Avaliação Visual-TSZ
	g/dl	mg/dl	UT	>P=P>P
A	5,14	702	22	2,85
B	5,12	639	23	2,71
Sanidade F=	4,73*	29,86**	48,09**	53,33**
Tempo F=	3,29**	5,01**	7,31**	6,31**
T x S F=	0,00		4,20**	0,00

** P < 0,01; * P < 0,05

A = Sadio; B = Doente; T = Tempo; S = Sanidade

1< P (abaixo do padrão) 2 = P (padrão) 3> P (acima do padrão)

DISCUSSÃO

A FTP de Ig é uma das causas importantes de mortalidade perinatal. Por isso, é de fundamental importância que se determine a situação imunológica do neonato até as 24h de vida através de um método prático e eficaz, e que se conheçam os níveis de Ig sérica de produtos doentes e sadios.

Observa-se na Tabela 1 e 2 que tanto nos potros sadios como nos doentes, os teores mais baixos de Ig, avaliados através da eletroforese e da TSZ, foram encontrados 3 horas após a primeira mamada. As 6 horas os níveis subiam para mais de 400mg/dl, equivalentes a mais de 20UT, ou uma turvação acima do padrão, o que seria considerado a garantia de ter ocorrido uma transferência adequada de anticorpos (McGUIRE et al, 1977; RUBIN, 1982; SILVA et al, 1984).

RUBIN (1982) e SILVA et al (1984) verificaram que 6 horas após a ingestão do colostrum já se poderia colher uma amostra de soro para a avaliação do teor de imunoglobulinas; porém, observa-se nas Tabelas 1 e 2 que esses níveis continuam a aumentar. Entre 12 a 24 horas após a primeira mamada a Ig é mais alta, mesmo nos potros identificados como clinicamente doentes, e retrata valores equivalentes aos de potros com 6 meses de idade; a resultados semelhantes chegaram REILLY & McDUGAL (1973) e JEFFCOTT (1974b).

Nos potros sadios (Tabela 1), 12 horas após a primeira mamada, verificou-se uma concentração de Ig de 863mg/dl, equivalendo a 22UT e um grau de turvação à avaliação visual de 2,67; gamaglobulina em nível compatível só foi observada nos potros doentes (807mg/dl - Tabela 2) 24 horas após a primeira mamada; na TSZ essa diferença não ficou bem estabelecida. Isso pode ser comprovado pela análise da Tabela 3, onde a variação da Ig nos potros sadios é significativamente superior a dos doentes. Verificou-se, também, que a análise da proteína total, pela variação mínima que apresenta no decorrer do período, tem pouca importância diagnóstica, o que está de acordo com RUMBAUGH et al (1978/1979) e RUBIN (1982). Com base nesses dados, pode-se concluir que o teor mínimo de Ig de 400mg/dl sugerido por McGUIRE et al (1977) não é compatível com o nível médio fisiológico de potros sadios, que deverá ser estabelecido em 800mg de Ig/dl, seguindo orientação similar à indicada por KOTERBA et al (1985), SILVA (1988), SILVA et al (1988), LeBLANC (1990) e STONEHAM et al (1990).

Através da análise das Tabelas 1 e 2 pode-se verificar uma clara tendência de queda nos níveis de Ig entre os 28 e 35 dias de vida do potro. Esse decréscimo pode, perfeitamente, significar o início do desaparecimento da imunidade passiva adquirida através do colostrum, e o começo da mobilização imunológica própria,

já descrita por REILLY & McDUGAL (1973), JEFFCOTT (1974b), TIZARD (1977), MORRIS (1986), LeBLANC (1990). Essa fase da vida do potro - 1 mês de idade - se caracteriza por uma alta incidência de doença respiratória e diarréia.

Essa queda de Ig sugere que, aparentemente, qualquer tentativa de terapia, especialmente quando houver preocupação com as infecções do trato respiratório e digestivo, na maioria das vezes fatais nesta idade, deveria se basear na aplicação de antígenos exógenos. O diagnóstico precoce dos níveis de Ig permitiria um tratamento antes desta fase de troca da imunidade. Paralelamente, deve-se salientar que potros com baixos teores de Ig sérica tem sobrevivido em ambientes favoráveis, e que outros com altos teores tem sucumbido em ambientes desfavoráveis (BALDWIN et al, 1990).

Em suma a proteção as infecções nos potrinhos deve depender não só de uma concentração mínima de 800mg/dl de Ig sérica, mas, também, das condições ambientais e de manejo.

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a - Sistema Vacutainer, Dickson Ind. Cir. - MG, Brasil.
- b - Kit Equimuno-test, Membyrá Animal Services Ltda, Santa Maria-RS, Brasil.
- c - Proteínas Totais - (Biureto)-Labtest Sistemas para diagnóstico Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- d - Spectronic 21 - Milton Roy Company. Nova York, USA.
- e - Tecnow. SP, Brasil.
- f - Cellogel-Citex Comércio, Importação e Exportação Ltda. - RJ, Brasil.
- g - Veronal sódico, Doles. Reagentes e equipamentos para laboratórios Ltda, Goiânia, GO, Brasil.
- h - Densitômetro - Cosmo Densitometer - Super Clik Model D-101.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDWIN, J.L., COOPER, W.L., VANDERWALL, D.K., et al. Occurrence and severity of illness in hypogammaglobulinemic and non-hypogammaglobulinemic foals. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON VETERINARY PERINATOLOGY, 1990, Cambridge. Proceedings ... Suffolk: Premier Printers, 1990. 64 p. p. 17.
- GASKIN, J.M., KING, R.R., LANE, T.J., et al. Serological detection of *Rhodococcus equi* infections of foals. Ann Conv Vet Immunolo - Forum, v. 8, p. 581-584, 1990.
- JEFFCOTT, L.B. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. Equine Vet J, v. 6, n. 3, p. 109-115, 1974a.

- JEFFCOTT, L.B. Studies on passive immunity in the foal. I. Gammaglobulin and antibody variations associated with the maternal transfer of immunity and the onset of active immunity. *J Comp Pathol*, v. 84, p. 93-101, 1974b.
- KOTERBA, A.M., BREWER, B., DRUMMOND, W.H. Prevention and control of infection. *The Veterinary Clinics of North America* Philadelphia, v. 1, p. 41-50, 1985.
- LeBLANC, M.M. Immunologic considerations. In: KOTERBA, A.M., DRUMMOND, W.H., KOSCH, P.C. *Equine clinical neonatology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990. cap. 16, p. 275-294.
- McEWAN, A.D., FISHER, E.W., SELMAN, I.E., et al. A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in the neonatal calf serum. *Clin Chim Acta*, v. 27, p. 155-163, 1970.
- MCGUIRE, T.C., CRAWFORD, T.B., HALLOWELL, A.L., et al. Failure of colostral immunoglobulin transfer as an explanation for most infections and deaths of neonatal foals. *J Am Vet Med Assoc*, v. 170, n. 11, p. 1302-1304, 1977.
- MORRIS, D.D. Immunologic diseases of foals. *Compend Contin Educ Pract Vet*, v. 8, p. 139-150, 1986.
- REILLY, W.J., McDUGAL, D.F. The metabolism of IgG in the newborn foal. *Res Vet Sci*, v. 14, p. 136-137, 1973.
- RUBIN, M.I.B. Imunoglobulinas séricas do potro recém-nascido, da égua, e do colostrum, com referência especial ao diagnóstico da imunidade passiva adquirida através do colostra Santa Maria, 1982. 35 p. Tese (Dissertação de Mestrado, Fisiopatologia da Reprodução). - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 1982.
- RUMBAUGH, G.E., ARDANS, A.A., GINNO, D., et al. Measurement of neonatal equine immunoglobulins for assessment of colostral immunoglobulin transfer: comparison of single radial immunodiffusion with the zinc sulfate turbidity test, serum electrophoresis, refractometry for total serum protein, and the sodium sulfite precipitation test. *J Am Vet Med Assoc*, v. 172, n. 3, p. 321-315, 1978.
- RUMBAUGH, G.E., ARDANS, A.A., GINNO, D., et al. Identification and treatment of colostrum deficient foals. *J Am Vet Med Assoc*, v. 174, n. 3, p. 273-276, 1979.
- SILVA, C.A.M., RUBIN, M.I.B., WAIHRICH, F.L., et al. Diagnóstico da imunidade passiva adquirida através do colostro no potro recém-nascido. *Pesq Vet Bras*, v. 4, n. 1, p. 11-15, 1984.
- SILVA, C.A.M., SILVA, J.F.S., ALDA, J.L., et al. Diagnóstico imediato da imunodeficiência do potro recém-nascido. *Rev Bras Reprod Anim*, v. 12, n. 4, p. 203-212, 1988.
- SILVA, J.F.S. Diagnóstico precoce da imunodeficiência no potro recém-nascido através do teste da turvação pelo sulfato de zinco. Santa Maria, 1988. 40 p. Tese (Dissertação de Mestrado, Fisiopatologia da Reprodução). - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 1988.
- STONEHAM, S.J., DIGBY, N.J.W., RICKETTS, S.W. Failure of passive transfer of colostral immunity (FPT): incidence and the use of plasma transfusions. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON VETERINARY PERINATOLOGY, 1990, Cambridge. Proceedings.. Suffolk: Premier Printers, 1990, 64 p. p. 17.
- TIZARD, I.R. Immunology of the fetus and newborn foals. In: TIZARD, I.R. *Veterinary immunology*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1977. cap. 10, p. 168-183.