

## COMPONENTES IMUNOLÓGICOS DO COLOSTRO SUÍNO FRESCO E CONGELADO

Shaiana Salete Maciag<sup>1</sup>, Ricardo Forner<sup>2</sup>, Franciana V. Bellaver<sup>3</sup>, Gabrielly Bombassaro<sup>3</sup> e Ana Paula Bastos<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Ciências Veterinária - Universidade do Centro-Oeste do Paraná

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

<sup>3</sup>Instituto Federal Catarinense - Campus Concórdia

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves

**Palavras-chave:** banco de colostro, imunidade passiva, células imunes.

### INTRODUÇÃO

A ingestão de colostro pelo leitão nas primeiras horas de vida é de extrema importância para seu desenvolvimento saudável, já que nessa espécie a transferência de imunidade materna se dá de forma passiva pela ingestão do colostro (1). O colostro é rico em imunoglobulinas e células imunes, bem como outros compostos que nutrem e regulam as funções biológicas. Células polimorfonucleares são as mais abundantes e em menor quantidade estão os linfócitos, fagócitos e células epiteliais (2). A hiperproliferação em fêmeas permitiu o aumento no tamanho da ninhada, como consequência aumentou a heterogeneidade de peso da leitegada, já que muitas vezes a matriz não produz colostro suficiente ou o leitão apresenta uma viabilidade baixa que compromete a ingestão adequada de colostro (3). O colostro pode ser armazenado em geladeira ou freezer, no entanto o processo de congelamento e descongelamento pode causar danos às células que compõem o colostro, portanto pouco se sabe sobre a viabilidade celular e a imunogenicidade do colostro, bem como o seu prazo de validade. No presente estudo objetivou-se comparar o perfil dos componentes imunes do colostro fresco e congelado.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em 20 porcas mestiças Landrace x Large White de paridades mistas. O colostro foi coletado manualmente em tubos de 50 mL após o nascimento do primeiro leitão. O colostro foi avaliado fresco, com 7 e 15 dias de congelamento, e após foram descongeladas em banho maria a 37°C. As amostras de colostro foram diluídas 1 em 3 em PBS contendo 5% de soro fetal bovino e centrifugadas por 10 min a 1300 rpm. A camada superior gorda foi descartada. A viabilidade das células foi avaliada pelo teste de azul de tripan. As amostras foram incubadas com os seguintes anticorpos: isotipos controles; CD3, CD4, CD8, granulócitos, macrófagos CD79a, CD5 CD14, CD16 e CD335. A citometria de fluxo foi realizada com citômetro de fluxo Accuri® (Becton Dickinson) e a fluorescência dos anticorpos foi detectada nos canais FL1 (530/30 nm) para FITC, FL2 (585/42 nm) para PE e FL3 (661/16 nm) para APC. Foram analisados 50.000 eventos (baseados no FSC e SSC). Os dados foram analisados com o software Accuri C6 plus (Becton Dickinson).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisou-se a população de células imunes no colostro fresco e congelado por 7 e 15 dias, conforme a tabela 1, as células imunes predominantes no colostro foram em torno de 40% de granulócitos no colostro fresco e com 7 dias de congelamento, não havendo redução significativa com o congelamento. Seguido por linfócitos T (CD3<sup>+</sup>, 28%) não havendo diferenças significativas entre os períodos de congelamento. Entretanto, a subpopulação de células CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, diminuiu significativamente sua população após o congelamento, como células T CD4<sup>+</sup> *naive* (CD4<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>), memória central CD4<sup>+</sup> T (CD4<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>) e células T CD4<sup>+</sup> de memória efetora (CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>). Também houve redução na população de células T CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, com o congelamento, reduzindo sua população de 38% do colostro fresco para 34% e 32% com 7 e 14 dias de congelamento, respectivamente. Os fenótipos de memória (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>) e de memória central (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>) não apresentaram diferenças com o congelamento. As células de memória efetora (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>) e as células CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> também não apresentaram perdas significativas com o congelamento de 7 dias, porém houve uma redução significativa com o congelamento de 15 dias em que houve perda de mais da metade das células. Os linfócitos B, no geral, tiveram uma redução da sua população com o congelamento tanto com 7 dias e mais ainda aos 15 dias. No entanto, a subpopulação CD79a<sup>+</sup> SWC7<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup> foi a que teve maior diferença entre o colostro fresco e congelado. Células NK se apresentaram em torno de 15% tanto no colostro fresco como congelado. E por último a população de macrófagos ficou em torno de 8%, não havendo diferença significativa com o congelamento. Não observamos alterações significativas nas imunoglobulinas A, M e G com o congelamento.

### CONCLUSÕES

No presente estudo, observamos que com o congelamento do colostro houve redução significativa nos linfócitos, sendo que o tempo de congelamento causa uma redução diretamente proporcional ao período de congelamento, observamos a influência do processo de congelamento sobre algumas células imunes como macrófagos e granulócitos. A formação de bancos de colostro é uma alternativa viável a ser empregada na produção de suínos, contudo, deve-se garantir que este material não perca suas

propriedades fundamentais para garantir o suprimento imune necessário ao leitão. De acordo com os resultados preliminares, o colostro congelado tem uma validade de 15 dias para transferência de imunidade humoral e um prazo de 7 dias para transferência imunológica celular.

#### REFERÊNCIAS

1. QUESNEL, H.; FARMER, C.; DEVILLERS, N. Colostrum intake: influence on piglet performance and factors of variation. *Livestock Science* 145, 105–114, 2012.
2. MAGNUSSON, U.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; EINARSSON, S. A Simple, Rapid Method for Differential Cell Counts in Porcine Mammary Secretions. *Veterinary Record* 129 (22):485-490, 1991.
3. QUESNEL, H. Colostrum production by sows: variability of colostrum yield and immunoglobulin G concentrations. *Animal* 5, 1546–1553, 2011.
4. BALZANI, A.; CORDELL, H. J.; EDWARDS, S. A. Evaluation of an on-farm method to assess colostrum IgG content in sows. *Animal*, 10:4, pp 643–648, 2015.

**Tabela 1.** Componentes Imunológicos do colostro fresco e congelado

Células imunes	Tratamento		
	Fresco	7 dias	15 dias
<b>Granulocitos</b>	40,61±1,265	40,56±1,142	37,42±1,356
<b>Macrofagos+</b>	9,282±1,549	7,140±1,215	8,645±1,890
<b>CD79A+</b>	15,00±1,807 <sup>a</sup>	5,384±0,937 <sup>b</sup>	6,132±1,485 <sup>b</sup>
CD79A <sup>+</sup> SWC7 <sup>+</sup> IGM <sup>+</sup>	22,65±2,372	20,18±3,314	19,53±1,970
CD79A <sup>+</sup> SWC7 <sup>+</sup> CD45R/B220 <sup>+</sup>	2,406±0,366	3,399±0,834	1,974±0,556
CD79A <sup>+</sup> SWC7 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup>	27,580±0,954 <sup>a</sup>	24,190±0,982 <sup>b</sup>	23,976±0,895 <sup>b</sup>
<b>CD3+</b>	29,92±1,607	28,41±1,527	26,71±1,713
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	10,72±1,535 <sup>a</sup>	6,121±1,542 <sup>ab</sup>	5,219±1,251 <sup>b</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	4,790±0,861 <sup>b</sup>	3,944±0,634 <sup>b</sup>	19,44±1,999 <sup>a</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>	13,90±2,132 <sup>a</sup>	10,53±1,091 <sup>a</sup>	4,835±1,415 <sup>b</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup> CD45RA <sup>-</sup>	25,77±2,265 <sup>a</sup>	22,50±2,002 <sup>a</sup>	9,575±1,534 <sup>b</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	38,93±0,972 <sup>a</sup>	34,15±1,225 <sup>b</sup>	32,45±1,285 <sup>b</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	5,836±1,278	4,468±0,647	5,394±1,229
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> [CD27 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>	14,66±1,772	11,32±1,138	9,893±1,339
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD27 <sup>-</sup> CD45RA <sup>-</sup>	22,10±1,977 <sup>a</sup>	20,30±1,948 <sup>ab</sup>	14,96±1,591 <sup>b</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	25,77±2,265 <sup>a</sup>	22,50±2,002 <sup>a</sup>	9,575±1,534 <sup>b</sup>
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>low</sup> CD335 <sup>+</sup>	14,93±1,117	14,39±1,549	15,85±1,850