

DINÂMICA DA COLONIZAÇÃO INTESTINAL E IMUNIDADE CONTRA *ESCHERICHIA COLI* EM BEZERRAS HOLANDESAS

Bruna Paes de Barros; Daniela Castro Tardón; Fernanda Carolina Ramos; Camila Cecília Martin; Viviani Gomes

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo

bruna.paes.barros@usp.br

Objetivos

A diarreia representa 57% da mortalidade em bezerras no pré-desmame e o principal fator de risco é a falha na transferência de imunidade passiva. Dentre os agentes etiológicos, as *Escherichia coli* (*E. coli*) patobióticas (incluindo a produtora da toxina ST) se destacam pelo risco de septicemias e mortalidade. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a dinâmica de colonização do trato gastrointestinal e a produção de anticorpos específicos para *E. coli* em bezerras Holandesas recém-nascidas.

Métodos e Procedimentos

Foram selecionadas 20 bezerras oriundas de partos eutócicos. Diariamente, realizou-se o escore fecal (escala 0 a 3), além da coleta de fezes e sangue no D1, D3, D7, D14 e D28. O colostro e o soro sanguíneo foram usados para a mensuração da IgG total e da IgG específica contra *E. coli* por meio do teste imunoenzimático (ELISA). A dinâmica de colonização do trato gastrointestinal das bezerras foi avaliada por meio da PCR em tempo real (qPCR) e para a PCR convencional foram isoladas as *E. coli* das fezes. As análises estatísticas foram realizadas no programa SAS System for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, E.U.A.) utilizando um valor de $P<0,05$.

Resultados

A frequência de diarreia (escore fecal 2 e 3) aumentou do D1 até o pico no D12, com diminuição gradual nos momentos posteriores. Observou-se aumento gradual na quantidade de DNA de bactérias totais (16S rRNA) nas

fezes das bezerras, atingindo um pico no D28. O D3 apresentou o maior valor do número de cópias de DNA de *E. coli*, com redução gradual no tempo. A quantidade de bezerras positivas para o gene ST aumentou gradativamente no tempo e alcançou seus valores máximos nos D14 e D28. O perfil de anticorpos específicos contra a *E. coli* foi semelhante ao da IgG total, observando-se títulos máximos no D3 com diminuição gradual até o D28.

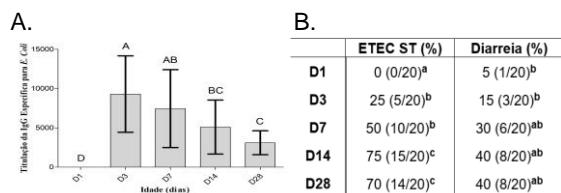


Figura 1: A. Titulação de IgG específica para *E. coli* no soro sanguíneo de bezerras Holandesas no período neonatal. B. Frequências (valores absolutos) de bezerras Holandesas positivas para a toxina termoestável e para a presença de diarreia

Conclusões

O pico máximo de anticorpos foi observado após a ingestão do colostro materno no D3. A alta concentração de anticorpos específicos contra *Escherichia coli* no colostro e a eficácia no protocolo de colostragem adotado nesta pesquisa, provavelmente protegeram as bezerras contra o desafio provocado pela *E. coli* produtora de toxina termoestável.

Referências Bibliográficas

COURA, F. Patotipos de *E. coli* causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 34, n. 9, p. 811-818, 2014.

DINAMIC OF INTESTINAL COLONIZATION AND IMUNITY AGAINST *ESCHERICHIA COLI* IN HOLSTEIN CALVES

Bruna Paes de Barros; Daniela Castro Tardón; Fernanda Carolina Ramos; Camila Cecília Martin; Viviani Gomes

College of Veterinary Medicine and Zootechnics - University of São Paulo

bruna.paes.barros@usp.br

Objective

Diarrhea accounts for 57% of mortality in pre-weaning calves and the main risk factor is failure to transfer passive immunity. Among the etiological agents, pathobiotic *Escherichia coli* (*E. coli*) (including the ST toxin producer) stand out for their risk of septicemia and mortality. The aim of this research was to evaluate the colonization dynamics of the gastrointestinal tract and the production of *E. coli* specific antibodies in newborn Holstein calves.

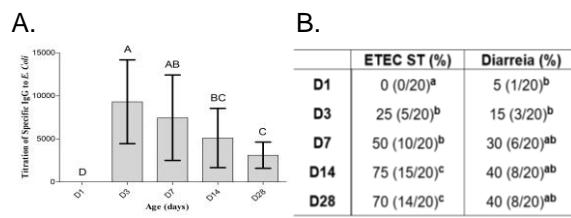
Materials and Methods

Twenty calves from eutocic parturition were selected. Fecal score (scale 0 to 3) was performed daily, as well as feces and blood collection at D1, D3, D7, D14 and D28. Colostrum and blood serum were used to measure total and specific IgG against *E. coli* by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The colonization dynamics of the gastrointestinal tract of calves was evaluated by real-time PCR (qPCR) and for conventional PCR, fecal *E. coli* were isolated. Statistical analyzes were performed using the SAS System for Windows program (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) using a P value < 0.05.

Results

The frequency of diarrhea (fecal score 2 and 3) increased from D1 to peak in D12, with gradual decrease in later moments. A gradual increase in the amount of total bacterial DNA (16S rRNA) was observed in calf feces, peaking at D28. D3 presented the highest value of *E. coli* DNA copy number, with gradual reduction in time. The number of ST gene positive calves gradually

increased over time and reached their maximum values at D14 and D28. The profile of specific antibodies against *E. coli* was similar to that of total IgG, with maximum titers in D3 decreasing gradually until D28.



Picture 1: A. *E. coli* specific IgG titration in the blood of Holstein calves in the neonatal period. B. Frequencies (absolute values) of thermostable toxin and diarrhea-positive Holstein calves

Conclusions

The maximum titers of antibody was observed after maternal colostrum ingestion on D3. The high concentration of colostrum-specific *Escherichia coli* antibodies and the efficacy of the colostration protocol adopted in this research probably protected the calves against the challenge caused by thermostable toxin-producing *E. coli*.

References

COURA, F. Patótipos de *E. coli* causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 34, n. 9, p. 811-818, 2014.