

## **INFLUÊNCIA DA SINDROME DIARRÉIA NO METABOLISMO OXIDATIVO DOS NEUTRÓFILOS DE BEZERROS DA RAÇA GIROLANDO**

Nívea Caroline M. Silva<sup>1</sup>; Tamires Soares Assis<sup>1</sup>, Marcos Roberto A. Ferreira<sup>1</sup>, Cecília Nunes  
Moreira<sup>2</sup>

1-Alunos (as) do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás – CAJ.

2 - Professora Adjunto do Curso de Medicina Veterinária, CAJ/UFG, Jataí, Goiás, Brasil, CEP:75800-000.

E-mail: cissanm@yahoo.com.br (autor correspondente)

**PALAVRAS-CHAVE:** Bovino, diarreia, NBT.

### **ABSTRACT**

#### **INFLUENCE OF DIARRHEA SYNDROME IN NEUTROPHILS OXIDATIVE METABOLISM IN GIROLANDO CALVES**

This study compares hemogram findings and neutrophils oxidative metabolism by the NBT reduction test of 14 Girolando calves with diarrhea. The animals were raised on a dairy farm in Santa Rosa, Universidade Federal de Goiás, Jataí Campus, located in the southwest of Goiás. Possible variations due to diarrhea complications evidenced at disease onset and at the end of treatment were evaluated and compared to results obtained from the examination of healthy animals (control group). Hemogram findings of sick and healthy calves were consistently different from those of bovine viral diarrhea infection. NBT test results revealed that neutrophils were less reactive at disease onset than at the end of treatment. Furthermore, their values were higher in healthy animals than in sick ones.

**KEYWORDS:** Bovine, diarrhea, NBT.

### **INTRODUÇÃO**

Na pecuária leiteira, a diarreia em bezerros ainda causa grandes prejuízos econômicos para a atividade, sendo influenciadas por fatores relacionados ao manejo dos animais, à inadequação das defesas do hospedeiro e à contaminação ambiental (SCHUCH, 2001). O período neonatal na espécie bovina é marcado por rápidas mudanças do quadro

hematológico, sendo ainda caracterizado por uma maior susceptibilidade às doenças (RADOSTITS et al., 2000). Na diarreia, podem ser observadas alterações hematológicas, onde a análise do leucograma auxilia no diagnóstico e na evolução do quadro clínico e possibilita a diferenciação entre as possíveis causas, classificando-as em virais, bacterianas ou parasitárias (KERR, 2003; BENESI, 2006). A fagocitose realizada pelo neutrófilo é um importante mecanismo de defesa do hospedeiro contra a invasão de microorganismos. O aumento da produção de substâncias oxidativas no interior do neutrófilo é fundamental para a eficiência deste processo de defesa (TIZARD, 2000). O teste da redução do nitroblue tetrazolium (NBT) foi um método desenvolvido para a determinação desta atividade oxidativa dos neutrófilos (BAEHNER & NATHAN, 1968; COSTA et al., 2004).

Os objetivos desta pesquisa foram determinar e comparar o hemograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos pelo teste de redução do NBT em bezerros girolando avaliando as possíveis variações devido ao complexo diarreia no início da enfermidade e ao final do tratamento, comparando os resultados obtidos com os de animais controle (hígidos).

## MATERIAL E MÉTODOS

Para realização do hemograma e do NBT foram coletadas amostras de sangue no início da enfermidade e sete dias após, período correspondente ao final do tratamento, sendo no total de duas amostras por animal enfermo. Nos animais testemunhas foram realizados o mesmos procedimentos de colheita das amostras nos mesmos dias e horários da colheita feita do animal doente. A colheita das amostras de sangue para a determinação do hemograma e NBT foi realizada por punção da veia jugular utilizando tubos *vacutainer* com anticoagulante EDTA a 10% obtendo 5mL de sangue. Foi determinado o volume globular (método do microhematócrito – COLES, 1984), proteína total por refratometria e o fibrinogênio plasmático pela técnica de precipitação no tubo de micro hematócrito a 56°C, além da contagem total de hemácias com utilização de câmara de newbauer e dosagem de hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina por espectrofotometria (JAIN, 1993). Também realizou-se a contagem total de leucócitos, com utilização de câmara de newbauer segundo o método descrito por JAIN (1993). Para a determinação do teste NBT foram obtidos 500 µL de sangue em tubos ependorf contendo 2,0 µL de heparina (Liquemine® 5000UI/mL, Roche, São Paulo, Brasil), nos momentos iniciais e finais do tratamento de cada animal enfermo e controle participante do projeto. Os testes da redução espontânea e da redução estimulada foram realizados pelo método citoquímico descrito por PARK et al. (1968) com algumas modificações. Foram preparados três esfregaços em lâminas desengorduradas e

corados pelo método de Leishman conforme JAIN (1993). Por meio de microscopia, com aumento de 1000X, para cada amostra e para cada prova foram contados 100 neutrófilos, discriminando o percentual de células NBT positivas ou negativas, conforme apresentavam ou não o NBT reduzido no interior do citoplasma. A análise estatística foi realizada de forma descritiva, considerando os valores médios e os desvios padrões em cada momento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizados exames clínicos e laboratoriais em 14 bezerros com idades entre 0 dias a 180 dias. Foi observado que não houve distinção de sexo, sendo afetados machos e fêmeas igualmente. A diarreia é considerada uma síndrome caracterizada por alterações da função gastrointestinal, cujo sintoma principal é a diarreia, sendo causa de grandes prejuízos econômicos na atividade agropecuária, pela mortalidade provocada entre os animais afetados, pelos tratamentos frustrados e, particularmente, pela perda de peso e desenvolvimento retardado dos bezerros que a apresentam (BRANDÃO et al., 2002; RADOSTITS et al., 2002; BENESI, 2006). Segundo BENESI (2006), o diagnóstico presuntivo na síndrome diarreia pode ser estabelecido considerando o histórico e as manifestações clínicas dos animais acometidos no momento e progressivamente, evolução do quadro, forma de instalação e epidemiologia da enfermidade na propriedade em avaliação o que condiz com os métodos utilizados nesta pesquisa como diagnóstico.

Os principais sinais clínicos observados foram fezes aquosas, apatia, cansaço e falta de apetite. As frequências respiratórias, no início do tratamento foi em média de 30 mpm, a cardíaca de 97,5 bpm e a temperatura 38 °C, em contrapartida, no final do tratamento tivemos as médias de 36 mpm, 95 bpm e 38,7 °C. Comparando com os animais controles, podemos concluir que os animais não apresentaram nenhum distúrbio nestas funções vitais, já que os animais saudáveis apresentaram índices semelhantes, discordando de informações de RADOSTITS et al. (2002). Quanto ao eritrograma e leucograma, do início da doença, nenhum animal apresentou anemia, 14,2% (2/14) apresentaram hematócrito aumentado, 14,2% (2/14) leucocitose, 35,7% (4/14) linfocitose, 35,7% (4/14) neutrofilia, 35,7% (4/14) monocitose, 71,4% (10/14) eosinofilia e 35,7% (4/14) apresentou hiperproteïnemia. Esse aumento do hematócrito e a hiperproteïnemia é compensatório da desidratação que animal esta sofrendo devido a grande perda de líquidos com a diarreia segundo KERR (2003). Já no termino do tratamento obtivemos todos os animais com valores normais de hematócrito, 64,2% (9/14) leucocitose, 50% (7/14) linfocitose, 14,2% (2/14) linfopenia, 50% (7/14) neutrofilia, 35,7% (4/14) desvio regenerativo a esquerda, 71,4% (10/14) monocitose, 50%

(7/14) eosinofilia e 14,2% (2/14) hipoproteinemia. Em relação as plaquetas, somente no término do tratamento foi evidenciado alterações, sendo que 35,7% (4/14) dos animais apresentaram trombocitose. Foi possível observar que ao final do tratamento houve mais alterações hematológicas nos animais, isso se deve a agressividade do tratamento e ao estresse sofrido pelo animal que foi manuseado diariamente para aplicação dos medicamentos. O hematócrito normal e a normoproteinemia mostram que, ao término do tratamento, a maioria dos animais não apresentam mais desidratação segundo KERR (2003). Os índices normais dos animais controles nos mostram que tais alterações nos animais doentes são devido à enfermidade.

Os animais que apresentaram diarreia apresentaram neutrófilos menos reativos no início da doença sendo em média 56% positivos e no final da doença 60% positivos. Fazendo um parâmetro com os animais controles pode-se concluir que animais saudáveis possuem um maior poder de reação dos neutrófilos, tendo um índice de 70% de neutrófilos reativos. Provavelmente a maior fagocitose realizada pelos neutrófilos dos animais controles contra a invasão de microorganismos, aumentou a produção de substâncias oxidativas no interior destes animais protegendo-os contra os agentes da diarreia (TIZARD, 2000).

Nos animais acometidos por diarreia, os bastonetes tiveram uma redução significativa após o tratamento ( $p < 0,05$ ), o fibrinogênio também apresentou uma redução significativa após o tratamento ( $p < 0,1$ ) e os demais parâmetros não apresentaram diferença significativa com relação ao início ou ao fim do tratamento.

## CONCLUSÃO

Foi possível concluir que na diarreia os animais apresentam diferença quanto ao início da doença e após o tratamento em suas funções vitais assim como em seus componentes sanguíneos, mostrando eficiência na resolução das enfermidades. Os valores de NBT nos animais com tristeza parasitária foram em menor quantidade no início da doença do que após o tratamento. Em todos os casos os animais saudáveis apresentaram maior valores de NBT, o que comprova que animais com maior metabolismo oxidativo dos neutrófilos apresentam maior resistência a agentes patogênicos variados.

## REFERÊNCIAS

BAEHNER, R. L.; NATHAN, D. G. Chronic granulomatous disease. **New England of Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 278, p. 1972-4, 1968.

BENESI, F. J. **Principais enfermidades de bezerros neonatos. Como diagnosticá-las e tratá-las?** [online]. 2006. Disponível em: <http://www.spmv.org.br/conpavet2004/palestras%20-20resumos/Neonatologia%20-%20Fernando%20Jose%20Benesi.doc>. Acesso em 15 set 2007.

BRANDÃO, P. E.; CORTEZ, A.; GREGORI, F.; HEINEMANN, M. B.; RICHTZENHAIN, L. J.; COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; KOHAYAGAWA, A.; FERREIRA, A. F. M. S. C.; CASSETARI, M. L.; CROCCI, A. J. Influência do desenvolvimento etário e da suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol) no metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 5, p. 293-298, 2004.

ROSALES, C. A. R.; JEREZ, J. A. Ocorrência de anticorpos anti-rotavírus em bovinos no estado de São Paulo. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n.3, p. 115-116, 2002.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417p.

KERR, G. M. **Exames laboratoriais em medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca. 2003, 434p.

PARK, B. H.; FIKRIG, S. M.; SMITHWICK, E. M. Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils. **Lancet**; United Kingdom, v.2, p.532-534, 1968.

RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G. J.; HOUSTON, D. M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000, 590p.

SCHUCH, L. F. D. Diarréia dos bezerros. In: RIET-CORREA, F.; SHILD, A.D.; MÉNDEZ, M.D.C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**, São Paulo, v. 1, n. 6, p. 408-420, 2001.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 6.ed. London: Saunders Company, 2000, 482p.