

EFEITOS DO PERÍODO PUERPERAL SOBRE O HEMOGRAMA E TESTE DE NBT EM VACAS GIROLANDO

Marcos Roberto A. Ferreira¹, Tamires Soares de Assis¹, Nívea Caroline M. Silva¹, Cecília Nunes Moreira²

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

2- Professor Adjunto do Curso de Medicina Veterinária, CAJ/UFG, Jataí, Goiás, Brasil.

CEP:75800-000. E-mail: cissanm@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Neutrófilos, metabolismo oxidativo, parto.

ABSTRACT

HEMOGRAM AND NBT TEST RESULTS OF PREGNANT GIROLANDA COWS

This study investigates the relationship between hematological parameters and neutrophil functional activity, evaluated by the NBT method, in pregnant Girolanda cows raised in Brazil. This work was carried out at the dairy farm Fazenda Santa Rosa at Universidade Federal de Goiás, Jataí Campus, southwest of Goiânia, Goiás State. Hemogram results revealed that the number of prepartum leukocytosis was higher than postpartum ones, although they were not characterized as leucopenia due to stress on leukocyte count during parturition. Assessment of neutrophils oxidative metabolism showed that reduction in the number of neutrophils in the postpartum period may be justified by stress.

KEYWORDS: Neutrophils, oxidative metabolism, parturition.

INTRODUÇÃO

A hematologia no meio semiológico vem acrescentar à Medicina Veterinária extraordinário auxílio para se estabelecer diagnósticos e acompanhar os tratamentos de inúmeras enfermidades que atingem os animais. Entretanto, é fundamental o conhecimento dos valores de referência do hemograma dos animais sadios. Os fatores ambientais exercem influência sobre o quadro hematológico desses, havendo uma concordância que animais criados sob diferentes condições ambientais podem apresentar variações no hemograma (SAUT & BIRGEL JUNIOR, 2006).

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, pelo estresse, gera uma cascata hormonal que culmina com o aumento nas concentrações de cortisol plasmático. No final da

gestação o número de eritrócitos aumenta em consequência do efeito eritropoiético da somatotropina coriônica placentária e da progesterona (LONGO, 1983). As alterações no leucograma de bovinos durante o parto são típicas de uma resposta leucocitária a um quadro de estresse (ESIEVO & MOORE, 1979). O número de leucócitos totais encontra-se aumentado, principalmente devido ao aumento de neutrófilos, com ou sem desvio à esquerda.

O número de cada tipo de leucócito varia, dependendo do grau de estresse e da condição das membranas fetais. Estas alterações são evidentes entre as 12 e 24 horas após o parto e diminuem nos dias subseqüentes. 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; BIRGEL JUNIOR & SAUT, 2004).

O objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos do período puerperal sobre o hemograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos (NBT) de vacas da raça Girolando.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido na propriedade rural Fazenda Santa Rosa, da Universidade Federal de Goiás – Campus Jataí, situada na região Sudoeste do Estado de Goiás, no município de Jataí. Foram coletadas amostras de sangue de 11 vacas girolando, 7 dias antes do parto e 24hs após o parto. A colheita foi realizada por punção da veia jugular utilizando tubos *vacutainer* com anticoagulante EDTA a 10% obtendo 5mL de sangue, para a determinação do volume globular (COLES, 1984), proteína total por refratometria, fibrinogênio plasmático pela técnica de precipitação no tubo de micro hematócrito a 56°C, contagem total de hemácias e de leucócitos com utilização de câmara de Newbauer e dosagem de hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina por espectrofotometria (JAIN, 1993).

Para a determinação do teste de redução do nitroblue tetrazolium (NBT), foram obtidos 500 µL de sangue em tubos eppendorf® contendo 2,0 µL de heparina (Roche, São Paulo, Brasil). A avaliação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos foram utilizados os testes NBT pelo método estimulado e não estimulado. Os testes NBT foram realizados pelo método citotóxico descrito por PARK et al. (1968). Desta solução de NBT foram pipetados e transferidos 50µL para frascos plásticos de 1000 µL (Stimulant, USA). Após homogeneização foram pipetados 50µL de sangue heparinizado, misturando-se as amostras com os reagentes, foram incubados a 37°C por 15 minutos em banho-maria e depois mais 15 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, utilizando-se lâminas foram preparados

esfregaços que posteriormente foram corados pelo método de *Leishman* conforme JAIN (1993). Por meio de microscopia, com aumento de 1000X, para cada amostra foram contados 100 neutrófilos, discriminando o percentual de células NBT positivas ou negativas, no interior do citoplasma.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação hematológica antes do parto, obteve-se os seguintes valores na série vermelha: hematócrito ($32,4\% \pm 6,4\%$), hemácias ($6,2 \text{ mm}^3 \pm 0,61 \text{ mm}^3$), fibrinogênio ($525 \text{ g/dL} \pm 320 \text{ g/dL}$), proteínas plasmáticas ($8,7 \text{ g/dL} \pm 0,68 \text{ g/dL}$), VCM ($52,8 \text{ fl} \pm 5,9 \text{ fl}$), CHCM ($33,3 \text{ g}\% \pm 0,61 \text{ g}\%$) e , plaquetas, ($316.625 \text{ mm}^3 \pm 188.348 \text{ mm}^3$). Quanto ao eritrograma, no período pré-parto, 9,09% (1/11) das vacas apresentaram anemia, sendo que 100% foi do tipo normocítica e normocrômica, 45,45% (5/11) dos animais apresentaram trombocitopenia e 54,54% (6/11) contagem de plaquetas normais. Em relação às proteínas plasmáticas totais, 54,45% (6/11) apresentaram hiperproteinemia, enquanto 45,45% (5/11) tinham índices normais de proteínas.

Passando à análise da série branca, os valores médios obtidos foram: leucócitos totais ($15.675 \text{ mm}^3 \pm 5.715 \text{ mm}^3$). No leucograma diferencial, os linfócitos ($9.640 \text{ mm}^3 \pm 6.104 \text{ mm}^3$), segmentados ($10.238 \text{ mm}^3 \pm 11.620 \text{ mm}^3$), bastonetes ($402 \text{ mm}^3 \pm 727 \text{ mm}^3$). Com relação ao leucograma, no período pré-parto, 54,55% (6/11) dos animais apresentaram leucocitose e 45,45% (5/11) contagem de leucócitos normais; dos linfócitos, 45,45% (5/11) mostraram linfócitos normais e 54,55% (6/11) linfocitose. Em relação à contagem de neutrófilos totais, 54,55% (6/11) resultaram em contagem normal e 45,45% (5/11) neutrofilia. Na contagem dos monócitos, 36,36% (4/11) apresentaram monocitose e 63,64% (7/11) contagem de monócitos normais. Evidenciou-se que 63,64% (7/11) apresentaram eosinofilia e 36,36% (4/11) contagem normal de eosinófilos.

Na avaliação hematológica após o parto, obtiveram-se os seguintes valores na série vermelha: hematócrito ($33\% \pm 5,6\%$), hemácias ($6,2 \text{ mm}^3 \pm 0,60 \text{ mm}^3$), fibrinogênio ($2.188 \text{ g/dL} \pm 4.000 \text{ g/dL}$), proteínas plasmática ($8,3 \text{ g/dL} \pm 0,66 \text{ g/dL}$), VCM ($53,4 \text{ fl} \pm 4,16 \text{ fl}$), CHCM ($33,3 \text{ g}\% \pm 0,42 \text{ g}\%$) e , plaquetas, ($362.286 \text{ mm}^3 \pm 167.305 \text{ mm}^3$). Quanto ao eritrograma pós-parto, 100% (11/11) das vacas apresentaram-se sem alterações, 27,27% (2/11) apresentaram trombocitopenia e 72,73% (8/11) contagem de plaquetas normais. Em relação às proteínas plasmáticas totais, 45,45% (5/11) apresentaram hiperproteinemia, enquanto 54,55% (6/11) apresentaram índices normais de proteínas.

No que se refere à serie branca, leucócitos totais ($13.594 \text{ mm}^3 \pm 3.108 \text{ mm}^3$), no leucograma diferencial, os linfócitos ($8.051 \text{ mm}^3 \pm 3.360 \text{ mm}^3$), segmentados ($3.991 \text{ mm}^3 \pm 2.357 \text{ mm}^3$), bastonetes ($14 \text{ mm}^3 \pm 39 \text{ mm}^3$). Quanto ao leucograma pós-parto, 45,45% (5/11) dos animais apresentaram leucocitose, 54,55% (6/11) contagem de leucócitos normais. Quanto aos linfócitos, 36,36% (4/11) apresentaram linfopenia e 63,64% (7/11) contagem de linfócitos normais. Já na contagem de neutrófilos totais, 72,73% apresentaram contagem normal e 27,27% neutrofilia. Na contagem dos monócitos, 36,36% (4/11) apresentaram diminuição de monócitos e 63,64% (7/11) estavam normais. Evidenciou-se que 9,09% (1/11) apresentaram eosinofilia, enquanto 90,91% (10/11) apresentaram índice normal de eosinófilos.

Quanto ao NBT os valores médios antes do parto foram ($47\% \pm 0,17\%$), e depois do parto foram ($32\% \pm 0,17\%$); sendo que 54,55% (6/11) das vacas apresentaram significativo decréscimo na porcentagem do NBT pós-parto em relação à porcentagem do NBT pré-parto e 45,45% (5/11) das vacas tiveram um aumento na porcentagem.

Com estes resultados, verifica-se que a maioria dos animais demonstrou leucocitose pré-parto, concordando com EISIEVO & MOORE (1979). Já no pós-parto houve um decréscimo significativo nos valores leucocitários, porém dentro dos valores referenciais segundo (MEYER et al., 1995), não caracterizando uma leucopenia, justificado por um estresse puerperal, discordando com AIELLO E MAYS (2001).

Não foram encontradas fontes seguras que nos fornecesse informações sobre a atuação do teste de NBT em vacas no pré e pós-parto. Os resultados encontrados nesse trabalho foram um decréscimo na porcentagem de NBT nos testes realizados no pós-parto provavelmente justificado pelo estresse puerperal.

CONCLUSÕES

Foi observado neste estudo que as vacas Girolando no período peri-parto apresentam seu sistema imunológico deficiente, visto a redução na capacidade de oxidação dos neutrófilos nas primeiras 24 horas após o parto, o que significa, que neste período estes animais podem se tornar mais susceptíveis as diversas enfermidades infecciosas como mastite e metrite, sendo o manejo preventivo essencial para o sucesso da pecuária leiteira e o bem estar dos animais.

REFERÊNCIAS

- BAEHNER, R. L.; NATHAN, D. G. Chronic granulomatous disease. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 278, p.1972-4, 1968.
- BIRGEL JUNIOR, E. H.; SAUT, J. P. E. Influência do período pós-parto sobre o leucograma de fêmeas bovinas da raça holandesa. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 588-597, 2006.
- COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984, 566p.
- ESIEVO, K. A.; MOORE, W. E. Effects of dietary protein and stage of lactation on the hematology and erythrocyte enzymes activities of high-producing dairy cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 26, n. 1, p. 53-58, 1979.
- FRASER, C. M.; BERGERON, J. A.; MAYS, A.; AIELLO, S. E. **Manual Merk de veterinária**. 7.ed. São Paulo: Rocca, 1997. 2169 p.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417p.
- LONGO, L. D. Maternal blood volume and cardiac output during pregnancy: a hypothesis of endocrinologist control. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 245, n. 5, p. 720-729, 1983.
- MEYER, J. D.; COLES, H. E; RICH, J. L. **Medicina de laboratório veterinária interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995.
- NAVARRO, C. E. K. G.; PACHALY, J. R. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela, 1994. 169p.
- TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 6.ed. London: Saunders Company, 2000, 482p