



AVALIAÇÃO DO METABOLISMO OXIDATIVO DE NEUTRÓFILOS DE BEZERROS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICO

BRUNA RIZZO^{1,2}, ANGELICA LINK³, ALCIONE SANTA CATARINA⁴, MARLA SCHNEIDER⁵, MAIARA GARCIA BLAGITZ AZEVEDO⁶.

1- Introdução

O manejo de bezerros é um ponto essencial para o sucesso desse sistema de produção, pois quando realizado de forma adequada pode reduzir os desafios externos e consequentemente os prejuízos econômicos. Logo após o nascimento, os bezerros passam por diversos desafios estressantes fisiológicos na tentativa de se adaptar ao novo ambiente. Diante disso, o manejo essencial nessa fase inclui algumas medidas como o fornecimento de colostro de qualidade, realização da cura do umbigo, adaptações das dietas líquidas, estimulação para o funcionamento do rúmen (GOMES, et al. 2016; DINIS, 2017).

Uma das formas de minimizar o estresse deste período é por meio da utilização de probióticos (GOMES, et al. 2016; DINIS, 2017). O conceito de probióticos foi fundamentado por Fuller em 1989, e atualmente são definidos como suplementos alimentares à base de microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas promovem o balanço da microbiota intestinal e, consequentemente, benefícios à saúde do hospedeiro (FULLER, 1989).

Para a avaliação do metabolismo oxidativo, Park et al. (1968) desenvolveram teste citoquímico de NBT (teste do nitrozul de tetrazólio) para avaliar o metabolismo oxidativo dos neutrófilos. Esta atividade é mensurada pela presença de formazan proveniente da redução do NBT pelo superóxido.

1 Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fronteira Sul, *campus* Realeza, **Bolsista**, rizzo.bruna@outlook.com

2 Grupo de Pesquisa: Sanidade Animal

3 Mestranda, Universidade Federal Fronteira Sul, *campus* Realeza.

4 Mestrando, Universidade Federal Fronteira Sul, *campus* Realeza.

5 Mestranda, Universidade Federal Fronteira Sul, *campus* Realeza.

6 Docente Adjunta, Universidade Federal Fronteira Sul, *campus* Realeza, **Orientadora**,



2- Objetivo

Avaliar o efeito do uso do probiótico sobre o metabolismo oxidativo de neutrófilos de bezerras da raça holandesa preta e branca do nascimento até o desmame.

3- Metodologia

A pesquisa está aprovada pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA), sob o protocolo nº 23205.000003/2018-80, onde está sendo desenvolvida em uma propriedade rural utilizando bezerras da raça holandesa preta e branca. Até o momento foram coletadas e processadas as amostras de 18 bezerras, em aleitamento e acompanhadas desde o nascimento até o período de desmame. No momento, animais foram divididos em dois grupos constituídos por 9 (nove) animais do grupo controle (GC) e 9 (nove) animais do grupo tratamento (GT). As bezerras foram separadas das mães após a ingestão do colostro (± 6 litros) e foi priorizada a escolha de apenas uma propriedade para que não ocorra interferência no manejo. As bezerras de ambos os grupos receberam leite na mamadeira conforme o manejo adotado na propriedade. Os animais do GT receberam a mamadeira da manhã 3 gramas/animal de probiótico DBR SACCH® comercial.

Foi realizada a coleta de sangue dos animais utilizando agulha 25x0,7 mm acoplada ao tubo do tipo vacutainer® contendo anticoagulante EDTA para hemograma e heparina para a avaliação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos por punção da veia jugular, após adequada antissepsia com álcool 70%. As amostras foram acondicionadas em caixa térmica até serem processadas no laboratório de Patologia Clínica da UFFS – *Campus Realeza*.

As amostras de sangue dos animais dos grupos controle e tratamento foram coletados nos seguintes momentos: Momento 1 (M1): até 24 após o nascimento e após a ingestão do colostro; Momento 2 (M2): 3 dias após o nascimento; Momento 3 (M3): 7 dias após o nascimento; Momento 4 (M4): 15 dias após o nascimento; Momento 5 (M5): 30 dias após o nascimento; Momento 6 (M6): 45 dias após o nascimento; Momento 7 (M7): 60 dias após o nascimento. Logo após a coleta de sangue, foi realizado exame físico geral e exame físico específico do sistema digestório e respiratório, conforme descrito por Feitosa (2014).

A avaliação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos foi realizado pela técnica de redução do nitroazul de tetrazólio (NBT) com kit comercial conforme método citoquímico descrito por Park e Good (1970), e modificado por Ciarlini et al 2002. Ambos os tubos foram



incubados a 37° C por 10 minutos e em seguida realizado os esfregaços das amostras não estimuladas e das amostras estimuladas com zymosan e corados com corante panótico rápido. Logo após a confecção das lâminas foram contados cem neutrófilos em cada um dos esfregaços sanguíneos (estimulado e não estimulado) em microscópio óptico com objetiva de imersão (100x), sendo considerados os neutrófilos que apresentaram grânulos citoplasmáticos de cor violácea ou enegrecida (cristais de formazan), independentemente do número e tamanho das granulações.

Os resultados foram analisados somente entre os grupos, independentemente dos momentos. A distribuição dos dados foi avaliada pelo Teste de Kolgomorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Dados com distribuição paramétrica foram inicialmente submetidos à análise de variância (ANOVA), que sendo significativa confrontar-se-á as médias pelo teste de Tukey. As variáveis com distribuição não-paramétrica foram comparadas pelo teste de Kruskall-Wallis, seguido pelo teste de Dunn's. As relações entre as variáveis foram estudadas pelo coeficiente de correlação e regressão linear, a qual será submetida a análise de variância para verificação de significância.

4- Resultados e Discussão

Cada amostra de sangue foi avaliada por lâminas em duplicatas. Uma delas sem estimulação e a outra estimulada. Nos resultados, pode-se observar que nas lâminas controle (sem estimulação) foram observados que os animais do GT apresentaram maior porcentagem de neutrófilos que realizaram o metabolismo oxidativo (Fig 1: Imagem A) do que os animais do GC. Isso indica que a atividade imunológica dos animais do grupo tratamento foi mais eficiente do que os animais do grupo controle.

Coutinho, 2012, revela em seu estudo que a utilização de probiótico por 120 dias foi capaz de estimular o sistema imunológico, e revela que além de estimular o sistema imunológico o probiótico apresentou eficácia no controle de helmintíase, e foi capaz de estabilizar a anemia dos animais tratados e apresentou um maior ganho de peso nos animais tratados comparado com os animais que não recebem a dosagem de probiótico na alimentação.

Já diante de estimulação, pode-se observar que os animais do GC apresentaram maior porcentagem de neutrófilos que realizaram o metabolismo oxidativo do que os animais do

GT. Porém, estes animais apresentaram maior porcentagem de neutrófilos que fagocitaram. Não foram encontradas diferenças entre os grupos quando comparados neutrófilos que realizaram o metabolismo oxidativo e a fagocitose.

5- Conclusão

Pode-se concluir que o uso do probiótico foi benéfico para o metabolismo oxidativo de neutrófilos de bezerras da raça holandesa preta e branca, tornando estes animais com resposta imunológica mais eficientes.

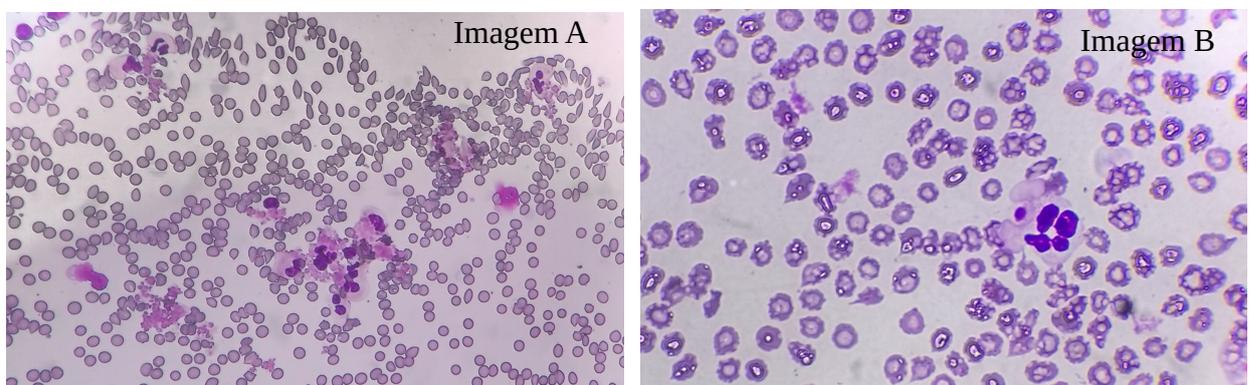


Figura 1: Na imagem A, podemos observar a fagocitose realizada pelos neutrófilos, dando início a ativação do metabolismo oxidativo avaliado pelo teste de tetrazólio de nitrozul (NBT). Na imagem B, podemos avaliar o teste estimulado de redução de NBT (NBT-E), com a finalidade de descartar resultados falsos positivos.

Referências:

- COUTINHO, S.T.; **Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre a sanidade de bezerras demamados em bezerras em fase de aleitamento.** Braz. J.Vet. Res.Anim.Sci. SP, v 37, 74-78,2012.
- DINIZ, S. N. M. M. A; **O Maneio do vitelo recém-nascido: Efeito da quantidade ingerida de colostro na vitalidade dos vitelos.** Ruminantes, 20, 56-58. 2017.
- FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico.** São Paulo: Roca, 2014.
- FULLER, R.; **Probiotics in man and animals.** J. Appl. Bacteriol., v. 66, p. 365-378, 1989.
- GOMES, R. L.; **Influência da faixa etária e sexo nos parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos de bezerras da raça senepol do nascimento a desmama.** 2016.

Palavras-chave: Atividade neutrofílica, NBT, probiótico, bovinocultura leiteira.

Financiamento: PIBIS/Fundação Araucária.