

PERFIL IMUNOLÓGICO DE ANIMAIS DA RAÇA CURRALEIRO COMPARADO A OUTRAS RAÇAS: IMUNIDADE CELULAR E METABOLISMO OXIDATIVO DE NEUTRÓFILOS

SOUZA, Saura Nayane de¹; **JULIANO**, Raquel Soares²; **JUNQUEIRA**, Maria Imaculada Muniz³; **SILVA**, Adriana Reis Bittencourt⁴; **OLIVEIRA**, Helton Freires de⁵; **COUTO**, Shirley Claudino Pereira⁶; **FIORAVANTI**, Maria Clorinda Soares⁷

Palavras-chave: bovinos, fagócitos, imunidade celular, NBT.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil dispõe de diversas raças que representam um grande patrimônio genético, porém despertam pouco interesse junto aos criadores, pois são menos produtivas que as raças comerciais. As raças naturalizadas possuem, por certo, alelos únicos, de grande importância econômica que, se perdidos, podem não ser mais recuperados. Portanto, o conhecimento da variabilidade genética dessas raças e o desenvolvimento de estratégias de conservação desse patrimônio genético são importantes para os programas de melhoramento e conservação de recursos genéticos. A quantificação dos componentes do sistema imunológico estabelece parâmetros importantes para a avaliação do mesmo em situações de normalidade ou quando submetidos às condições de estímulo ou supressão. O teste de redução do sal tetrazólio nitroazul (NBT) tem sido amplamente utilizado para estimar a produção de superóxido gerado pela ativação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos (CIARLINI et al., 2002), sendo o teste eleito nesse estudo para avaliar a atividade bactericida neutrofílica. Este trabalho teve como objetivo comparar os resultados de testes quantitativos de avaliação do metabolismo de fagócitos (NBT) entre bovinos de raças naturalizadas e cruzados Simental X Nelore.

2. METODOLOGIA

2.1 Colheita de amostras e animais

Os animais utilizados no estudo foram provenientes da Fazenda Sucupira (Embrapa – Cenargem). Além da raça Curraleiro, utilizou-se as seguintes raças naturalizadas: Mocho Nacional, Crioulo Lageano e Junqueira, totalizando 16 animais (G1). Os 12 animais mestiços Nelore X Simental, compuseram o segundo grupo (G2). As amostras foram acondicionadas sob refrigeração e processadas no laboratório de Imunidade Celular da UnB, no período máximo de uma hora.

2.2 Padronização da aderência e Teste do NBT

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular, em tubos heparinizados a vácuo. A metodologia aplicada para a quantificação da atividade oxidativa dos fagócitos em lâmina seguiu o modelo proposto por MUNIZ-JUNQUEIRA (2003). A primeira etapa constou da padronização da aderência dos fagócitos e obtenção do índice de aderência. Em seguida fez-se a preparação da suspensão estoque e de trabalho das leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, sensibilizadas e não sensibilizadas. Para o teste do NBT colocaram-se amostras de 40µl de sangue total nas lâminas, 20µl de solução de NBT e as leveduras. Depois de secar e fixar as preparações fez-se a coloração com safranina.

Realizou-se o teste do NBT estimulado (E) e não estimulado (NE). As lâminas foram examinadas ao microscópio óptico, contando-se a porcentagem de fagócitos que: não fagocitaram leveduras – NF (citoplasma rosado); não fagocitaram leveduras e reduziram NBT – NRF (citoplasma azulado-formazan); fagocitaram leveduras mas não reduziram o NBT - FNR (citoplasma rosado), fagocitaram leveduras e reduziram NBT – RF (formazan) e não fagocitaram e não reduziram NBT – NFNR.

2.3 Hemograma

Foram colhidos 5 ml de sangue em tubos a vácuo com EDTA. O hemograma foi realizado em aparelho automático modelo ABCvet (*Animal Blood Counte*), fabricante ABX, utilizando-se cartão próprio de leitura para a espécie bovina.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Hemograma

Os valores encontrados para o G1 estão dentro dos limites descritos por PAULA NETO (2004) para animais da raça Curraleiro. O G2 apresentou valores de bastonetes e eosinófilos acima dos limites citados por COSTA (1994). COPPO et al. (2000) relataram que, em bovinos, o aumento de eosinófilos esteve relacionado à liberação de catecolaminas em situações de manipulação, contenção e colheita de sangue. O G2 apresentou linfócitos atípicos, sugerindo-se que sua ocorrência tenha sido provocada pelo tempo de estocagem em anticoagulante, até o momento da realização do esfregaço, já que ocorreu em pequena quantidade em alguns animais que não apresentaram qualquer outra alteração no hemograma. O G2 apresentou valores significativamente maiores ($p < 0,05$) de hemácias, hemoglobina, VG, bastonetes e monócitos; esses resultados foram considerados como característicos da raça, já que essas variáveis tiveram seus valores dentro dos valores de referência consultados (COSTA, 1994).

3.2 Aderência

Os neutrófilos aderiram em maior número nas lâminas que os demais fagócitos, em ambos os grupos avaliados, porém a aderência de neutrófilos foi significativamente maior no G1 ($p < 0,05$). Os valores médios mais elevados de aderência de neutrófilos do G1 pode sugerir uma ativação maior dessas células nesse grupo em relação ao G2.

3.3 Teste do NBT

Os animais do G1 apresentaram maior porcentagem de redução de NBT-NE ($p < 0,01$) enquanto que o G2 mostrou maior porcentagem de redução no teste de NBT-E ($p > 0,05$). Foi possível verificar que quando submetidos ao estímulo de leveduras os animais do G1 diminuíram a redução de NBT enquanto os indivíduos do G2 apresentaram comportamento inverso. Entretanto, ambos mantiveram resultados semelhantes, sugerindo que a explosão respiratória destes animais ocorre com a mesma intensidade. Os valores de redução de NBT-E foram menores que NBT-NE, na maioria dos indivíduos dos dois grupos estudados. Ao avalia-se as categorias de resultados da prova de redução do NBT-E, foi possível verificar que não houve diferença significativa entre G1 e G2. A porcentagem de células NRNF, consideradas como inativas, foi significativamente ($p < 0,01$) maior que RF em ambos os grupos. A categoria RF é considerada ideal de resposta do NBT-E, pois indica a ingestão e eliminação do patógeno. A porcentagem de

células que reduziram o NBT, mas não fagocitaram (RNF) foi significativamente maior ($p < 0,01$) que RF em ambos os grupos, sugerindo que a produção de compostos oxidativos ocorreu, mesmo sem a ingestão do patógeno. No G1 não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre RF (categoria ideal) e a porcentagem de células que não reduziram o NBT, mas fagocitaram (NRF).

4. CONCLUSÕES

As raças naturalizadas e mestiças responderam diferentemente a um mesmo estímulo antigênico, possuindo mecanismos de atuação leucocitária diferentes entre si. O mecanismo de aderência das células fagocitárias foi mais eficiente nas raças naturalizadas do que nas raças mestiças, porém os processos de redução de NBT e fagocitose não diferiram entre as raças. A avaliação hematológica indica que os bovinos mestiços mostraram-se mais estressados que os de raças naturalizadas. É necessário que se tenha um laboratório próximo ao local de obtenção das amostras, com temperatura e umidade controlada para a manipulação das células, o que pode apresentar limitações quando feitas em condições a campo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CIARLINI, P. C.; CIARLINI, L. D. R. P.; ALENCAR, N. X.; HOHAYAGAMA, A.; RODRIGUES, C. F. C. Metabolismo oxidativo de neutrófilos em ovelhas naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais e correlação entre nível sérico de cortisol e carga parasitária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.54, n.3, p.242-247, 2002.
2. COPPO, J. A.; COPPO, N. B. REVIDATTI, M. A.; CAPELLARI, A. Modifications del leucograma en terneros cruza cebú precoxmente destetados. **Revista Veterinaria**, Corrientes, v.10, n.1, p.15-21, 2000.
3. COSTA, J. N. **Leucograma de zebuínos (*Bos indicus*, Linnaeus, 1758) sadios da raça Nelore criados no Estado de São Paulo. Influência dos fatores etários e sexuais**. São Paulo, 1994. 124p. Tese (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
4. MUNIZ-JUNQUEIRA, M. I.; PEÇANHA, L. M. F.; DA SILVA-FILHO, V. L.; CARDOSO, M. C. A.; TOSTA, C. E. Novel microtechnique for assessment of postnatal maturation of the phagocytic function of neutrophils and monocytes. **Diagnostic and Clinical Immunology**, New York, v.10. n.6, p.1096-1102, 2003.
5. PAULA NETO, J. B. **Hemogramas de bovinos (*Bos taurus*) sadios da raça curraleiro de diferentes idades, machos e fêmeas, gestantes e não gestantes**. 2004. 81f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás.

FONTE DE FINANCIAMENTO – Ministério da Integração Nacional e CNPq

¹ Aluna de Iniciação Científica. Escola de Veterinária. UFG. saurasouza@hotmail.com

² Médica Veterinária, Pós-Graduação em Ciência Animal. EV/UFG. rinbox@gmail.com

³ Médica, Professora da FAMED. UnB. mimjunqueira@unb.br

⁴ Aluna de Iniciação Científica. EV/UFG. adriana_bitt@hotmail.com

⁵ Técnico do Laboratório de Patologia Clínica. HV/UFG. heltonfo@hotmail.com

⁶ Técnica do Laboratório de Imunologia Celular. UnB. shirleycouto@unb.br

⁷ Orientadora. EV/UFG. clorinda@vet.ufg.br