

## **Comparação de parâmetros bioquímicos e celulares de bezerros taurinos e zebuínos ao nascimento: implicações clínicas e associação com fenótipos de resistência contra carrapatos<sup>1</sup>**

Carla Loures<sup>2,3</sup>, Gabrielle Soares<sup>2,4</sup>, Isabela Karoline de Aguiar Soares<sup>2,4</sup>, Jair Alves da Cunha Filho<sup>2,4</sup>, Robert Domingues<sup>5</sup>, Emanuelle Baldo Gaspar<sup>5</sup>, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza<sup>6</sup>, Mariana Magalhães Campos<sup>6</sup>, Marta Fonseca Martins<sup>6</sup>, Marcia Prata<sup>6</sup>, Marco Antônio Machado<sup>6</sup>, Wanessa Araújo Carvalho<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup>O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil. Parte do projeto SEG 10.19.03.054.00.00, liderado por Wanessa A. Carvalho.

<sup>2</sup>Bolsista do Programa de Bolsa de Iniciação Científica do CNPq/ Embrapa e

<sup>3</sup>Graduanda Medicina Veterinária- Universidade Federal de Viçosa. E-mail: carla.loures@ufv.br

<sup>4</sup>Graduanda(a) em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Juiz de Fora. E-mail:

[isabelakas1@gmail.com](mailto:isabelakas1@gmail.com), [jaircunhafilho@hotmail.com](mailto:jaircunhafilho@hotmail.com)

<sup>5</sup> Embrapa Pecuária Sul. E-mail: [robert.domingues@embrapa.br](mailto:robert.domingues@embrapa.br); [emanuelle.gaspar@embrapa.br](mailto:emanuelle.gaspar@embrapa.br)

<sup>6</sup> Embrapa Gado de Leite. E-mail: [marco.machado@embrapa.br](mailto:marco.machado@embrapa.br), [wanessa.carvalho@embrapa.br](mailto:wanessa.carvalho@embrapa.br), [marta.martins@embrapa.br](mailto:marta.martins@embrapa.br), [mariana.campos@embrapa.br](mailto:mariana.campos@embrapa.br)

<sup>7</sup> Orientadora: [wanessa.carvalho@embrapa.br](mailto:wanessa.carvalho@embrapa.br)

**Resumo:** Bovinos taurinos e zebuínos apresentam respostas fenotípicas contrastantes de resistência à endo e ectoparasitas, como o carrapato *Rhipicephalus microplus*. Para caracterização da resposta imune que medeia esses fenótipos antes da exposição ao carrapato bovino foram feitas análises dos parâmetros celulares e bioquímicos em neonatos holandeses (taurino) e Gir (zebuíno), antes do recebimento de colostro. O hematócrito, volume globular, hemoglobina e leucometria global apresentaram-se significativamente diminuídos em animais holandeses. Esses mesmos bezerros também apresentaram número maior de picos febris, indicativo de inflamação sistêmica, quando comparados aos animais Gir, sugerindo que a rusticidade de animais zebuínos pode ser inata e estar associada com mecanismos de transporte de ferro e oxigênio, além da resposta imune celular mediada por leucócitos.

**Palavras chave:** Gir, Holandês, resposta imune, bezerros, parâmetros bioquímicos, *Rhipicephalus microplus*, resposta imune

### **Comparison of biochemical and cellular parameters of taurine and zebu calves at birth: clinical implications and association with tick resistance phenotypes**

**Abstract:** Taurine and indicine cattle show contrasting phenotypic responses to endo- and ectoparasites, such as the tick *Rhipicephalus microplus*. To characterize the immune response that mediates these phenotypes before exposure to bovine ticks, analyzes of cellular and biochemical parameters were performed in Dutch (taurine) and Gir (indicine) bovine neonates before receiving colostrum. The hematocrit, globular volume, hemoglobin and global leukometry were significantly decreased in Dutch animals. These same calves also present higher number of febrile peaks, indicative of systemic inflammation, when compared to Gir animals, suggesting that the rusticity of indicine animals may be innate and associated with iron and oxygen transport mechanisms, in addition to the cellular mediated immune response by leukocytes.

**Keywords:** Gir cattle, Dutch cattle, immune response, calves, biochemical parameters, *Rhipicephalus microplus*, immune response

## Introdução

Em países tropicais a infestação de carrapatos em bovinos causa grandes perdas econômicas devido à diminuição da produção de leite e de carne, transmissão de patógenos e gastos com controle, atualmente feito com carrapaticidas, que são tóxicos e produzem resíduos em alimentos e contaminação ambiental (Almazan et al., 2018). Sabe-se que animais taurinos são mais susceptíveis ao carrapato *R. microplus* do que animais zebuínos, no entanto os mecanismos celulares e bioquímicos que medeiam esses fenótipos são pouco explorados (Tabor et al., 2017), especialmente em neonatos. Nesse sentido, a presente proposta visa analisar parâmetros bioquímicos e celulares em bezerros taurinos (Holandês; HPB) e zebuínos (Gir) associando esses dados com tabelas de referência universal (VR), parâmetros de saúde, como oscilação de temperatura e incidência de diarreia e dados de literatura acerca da relação parasito-hospedeiro.

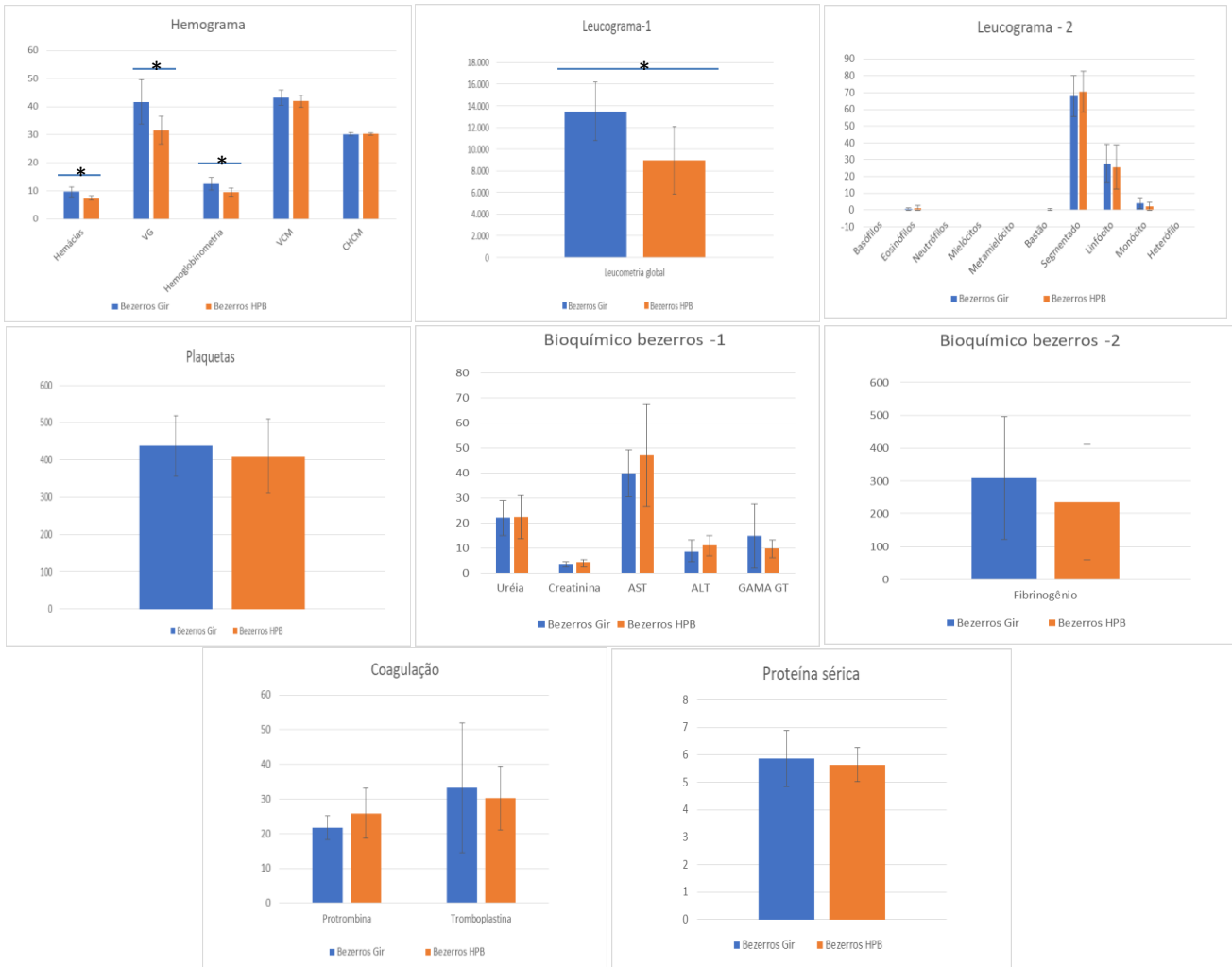
## Materiais e métodos

Os procedimentos realizados no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, processo número 8798030820) da Embrapa Gado de Leite. O experimento foi conduzido no Campo Experimental José Henrique Bruschi, da Embrapa Gado de Leite (Coronel Pacheco-MG). Foram utilizados bezerros taurinos (HPB; n=11) e zebuínos (Gir; n=11), machos e fêmeas, submetidos à coleta de sangue periférico por sistema de vacutainer imediatamente antes da colostragem, feita via sonda com colostro artificial (Saskatoon Colostrum Company Ltd, Canadá) para evitar interferência da imunidade passiva materna entre animais. As amostras de sangue foram submetidas à análises bioquímicas para dosagem de ureia, creatinina, hemoglobina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), Gama GT, tempo de protrombina (TTP), tempo de tromboplastina (TTPA) e fibrinogênio. Também foi feito o hemograma completo com contagem global de hemácias e leucócitos totais, todos realizados no laboratório CellLab (Juiz de Fora –MG). Todos os animais foram mantidos até os 4 meses de idade em uma estrutura isolada e telada, previamente desinfecionada com carrapaticida e hipoclorito de sódio 0,5%, para evitar contato com ectoparasitas. Diariamente, foram realizadas a aferição da temperatura retal e avaliação do escore das fezes, que foi classificada de 1 a 4, sendo 1(um) firme e 4 (quatro) líquida. Os dados de parâmetros bioquímicos e celulares foram comparados com valores de referência (VR) de exames laboratoriais para bovinos (Roland et al., 2014) e associados com a incidência de picos febris e diarreia em ambas as raças. Para análise estatística foram feitas análises de variância e Teste T comparando os valores médios de cada parâmetro encontrados para animais Gir e HPB considerando diferenças significativas com nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ).

## Resultados e discussão

As médias dos parâmetros de hemograma dos bezerros foram comparados com os valores de referência (VR) visando encontrar diferenças que possam justificar estudos para elaboração de tabelas para bezerros taurinos e zebuínos. Foram encontradas discrepâncias ( $p < 0,05$ ) nos valores da leucometria global (Gir =  $13491 \pm 2721,9$ ; HPB =  $8963,6 \pm 3129,3$ ; VR =  $8000 \pm 4000$ ), nos percentuais de eosinófilos (Gir =  $0,5455 \pm 0,6876\%$ ; HPB =  $1,1818 \pm 1,4709\%$ ; VR =  $11 \pm 9\%$ ), de linfócitos (Gir =  $27,636 \pm 11,369\%$ ;

HPB= 25, 636 ± 13,063%; VR= 60±15%) e de neutrófilos segmentados (Gir = 67,909 ± 12,243%; HPB= 70, 545 ± 12, 259%; VR= 30±15%). Esses resultados podem estar associados com a imaturidade do sistema imunológico de neonatos, tendo em vista que parte dessas células compõem o sistema imune adaptativo, o qual se desenvolve com o envelhecimento do animal, tendo uma significância clínica relevante para fins de diagnóstico de doenças em bezerros sugerindo-se um estudo mais amplo para uma revisão das tabelas de referência. Os resultados dos parâmetros hematológicos da série vermelha sugerem que animais Gir apresentam melhor eficiência no transporte de oxigênio e ferro, tendo em vista que possuem mais hemácias e hemoglobina (P<0.01; Figura 1), as quais carregam essas moléculas (Gell, 2018).



**Figura 1.** Parâmetros celulares e bioquímicos de bezerros neonatos antes do recebimento de colostro. \* P<0.001 (análise de variância seguido de Teste T).

O ferro é vital para a sobrevivência de micro-organismos e eficiência reprodutiva dos carrapatos (Kopacek et al., 2010), de modo que o hospedeiro animal possui mecanismos de retenção desse íon como forma de imunidade inespecífica para conter infecções e parasitismos (Jurado, 1997). Todavia, esse sequestro de ferro está envolvido na patogênese da anemia de inflamação (AI), que é mediada pelo aumento da concentração plasmática de citocinas pró-inflamatórias em quadros infecciosos e neoplásicos, o que gera a diminuição da disponibilidade de ferro e disfunção de eritropoetina (EPO) que resulta na diminuição da produção de hemácias (Jurado, 1997).

Interessantemente, nossos resultados também demonstraram que bezerros GIR e HPB apresentaram maiores níveis de creatinina sérica quando comparado ao VR (Gir =  $3,4182 \pm 0,8146$ ; HPB =  $4,0636 \pm 1,5507$ ; VR =  $1,2 \pm 0,6$ ), sugerindo uma alta correlação da imunidade com a atividade de EPO, desempenhada pelo rim nos estágios fetais e logo após o parto (Pesce et al., 2014). Como consequência do processo inflamatório, o animal apresenta sinais inespecíficos, como a febre. Vale ressaltar, também, que animais HPB apresentaram maior número de picos febris (temperatura igual ou superior a 39,3 °C) que animais Gir (HPB = 59 e Gir = 20 picos de febre em 4 meses de avaliação diária), corroborando os achados sugestivos acerca dos níveis de hemácias e hemoglobina e sua influência sobre os fenótipos de resistência a carrapatos apresentado por animais taurinos e zebuínos. Animais Gir também apresentaram leucometria global maior que animais HPB ( $P < 0.0001$ ), sugerindo uma maior predisposição ao desenvolvimento de respostas imunes mais rápidas e efetivas nos primeiros meses de vida, independente da colostragem materna, uma vez que todos os animais receberam colostro artificial.

### Conclusões

Existem divergências nos valores de referência de parâmetros celulares apresentados por animais adultos que justifiquem estudos populacionais voltados para a padronização de dados de referência para bezerros. Ademais, foram evidenciadas diferenças bioquímicas e celulares entre neonatos GIR e HPB que sugerem maior adaptação e robustez de animais zebuínos contra infecções parasitárias associadas, principalmente, com parâmetros aumentados da série vermelha e leucometria global.

### Agradecimentos

Agradeço a Embrapa Gado de Leite de Coronel Pacheco - MG, a todas as pessoas envolvidas no manejo dos animais e processamento das amostras e às pesquisadoras Wanessa Carvalho e Mariana Campos pela oportunidade e saberes compartilhados.

### Referências

- ALMAZAN, C.; TPIPACAMU, G. A.; RODRIGUEZ, S.; MOSQUEDA, J.; PEREZ DE LEÓN, A. Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle health and production. **Frontiers in Bioscience**, v.23, p.1535-1551, 2018.
- GELL, D. A. Structure and function of haemoglobins. **Blood Cells, Molecules & Diseases**, v. 70, p.13-42, 2018.
- JURADO, R. L. Iron, infections, and anemia of inflammation. **Clinical Infectious Diseases**, v. 25, p. 888-895, 1997.
- KOPACEK, O.; HAJDUSEK, O.; BURESOVA, V.; DAFFRE, S. Tick innate immunity. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.708, p.137-162, 2010.
- PESCE, M.; FELACO, P.; FRANCESCHELLI, S.; SPERANZA, L.; GRILLI, A. DE LUTTIS, M. A.; FERRONE, A.; SIROLI, V.; BONOMINI, M.; FELACO, M.; PATRUNO, A. Effect of erythropoietin on primed leucocyte expression profile. **Open Biology**, v.4, 140026, 2014.
- ROLAND, L.; DRILLICH, M.; IWERSEN, M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.26, p.592-598, 2014.
- TABOR, A. E.; ALI, A.; REHMAN, G.; ROCHA GARCIA, G.; ZANGIROLAMO, A. F.; MALARDO, T.; JONSSON, N. N. Cattle tick *Rhipicephalus microplus*-host interface: A review of resistant and susceptible host responses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.7, p.506, 2017.