

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXI Jornada de Pesquisa

PERFIL HEMATOLÓGICO DE VACAS HOLANDEAS CONFORME O PERÍODO DE LACTAÇÃO SUBMETIDAS A DIETA COM INCLUSÃO DE GLICERINA BRUTA¹

Ronaldo Junior Da Silva², Denize Da Rosa Fraga³, Cristiane Beck⁴, Julio Viégas⁵, Ana Paula Huttra Kleemann⁶, Patricia Carvalho Gindri⁷.

¹ Relatório Técnico Científico realizado durante experimento no IRDeR

² Aluno do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUÍ, Bolsista PIBIC/UNIJUÍ

³ Professora Mestre do Departamento de Estudos Agrários, UNIJUÍ, Orientadora, denise.fraga@unijuí.edu.br

⁴ Professora Doutora do Departamento de Estudos Agrários, UNIJUÍ, cristiane.beck@unijuí.edu.br

⁵ Professor Doutor Titular do Departamento de Zootecnia, Tutor grupo PET e NUPECLE-UFSM, jviégas.ufsm@gmail.com

⁶ Médica Veterinária do Departamento de Estudos Agrários, Mestranda em Bovinocultura de Leite do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da UFSM, annahuttra@gmail.com

⁷ Aluna do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUÍ, Bolsista PIBITI/UNIJUÍ, patricia.gindri@yahoo.com.br

Introdução:

A pecuária leiteira é uma das maiores atividades no setor agropecuário brasileiro. Para um maior desempenho nesta atividade é de extrema importância o monitoramento dos padrões sanguíneos dos animais, ou seja, a avaliação sanguínea e o seu funcionamento, pois alterações hematológicas podem representar a ocorrência de doenças nos rebanhos.

A importância do perfil hematológico está em auxiliar o estabelecimento de diagnósticos e consequentemente constituir prognósticos para assim, acompanhar os tratamentos das diversas doenças que afetam os animais. No entanto, para que estes objetivos sejam obtidos e possam ser utilizados com segurança, é de fundamental importância saber os valores de referência do hemograma de animais hígidos além dos fatores que podem causar variações nestes parâmetros, dando característica a um perfil hematológico diferente em cada categoria de bovinos leiteiros, tendo alterações conforme o período de lactação (MEIRELLES et al., 2009).

A glicerina bruta é um subproduto da fabricação do biodiesel, de alto valor energético para a alimentação animal, por este motivo o interesse em sua utilização na bovinocultura de leite (MENTEN et al., 2008). Segundo Fávaro (2010), a glicerina vem surgindo como uma fonte energética para a alimentação animal, sendo composta principalmente por glicerol. A absorção da glicerina bruta (glicerol) é feita pelo epitélio ruminal ou também pode ser fermentada em ácidos graxos de cadeia curta, sua metabolização é realizada no fígado e transformada em glicose (CUNHA et al., 2014). A glicose é fundamental no metabolismo de vacas leiteiras, podendo ser utilizada como substrato glicogênico para os ruminantes (CHUNG et al., 2007).

O objetivo deste trabalho é avaliar o perfil hematológico de vacas holandesas que foram submetidas à dieta com adição de glicerina bruta em diferentes períodos de lactação.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXI Jornada de Pesquisa

Metodologia:

O experimento foi conduzido no Instituto Regional de Desenvolvimento Rural (IRDeR) da UNIJUÍ, localizado no município de Augusto Pestana, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, no período de julho a agosto de 2015. O protocolo de pesquisa seguiu as diretrizes recomendadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Dezoito vacas da raça holandesa em lactação (600 ± 50 kg de peso corporal, DEL > 60 dias) foram divididas aos pares por DEL entre os tratamentos: 1) Dieta basal sem adição de glicerol (Grupo Controle), 2) Dieta com adição de 10% de glicerina bruta na Matéria Seca (MS). Foi realizado bloqueamento em cada tratamento, cada bloco constituído por vacas com produção individual de leite e período de lactação (60-120 dias), (121-200 dias) e (201-320 dias), similares. O período experimental teve duração de 56 dias, dividido em quatro períodos de 14 dias, sendo que, no primeiro período experimental todas as vacas receberam a mesma dieta para padronização. Posteriormente, foi atribuído aleatoriamente às vacas em pares, dentro de cada bloco, em uma sequência de três experimentos, durante 14 dias cada um, em delineamento de reversão simples (Cross-over).

As vacas de cada tratamento foram submetidas às mesmas condições de manejo e alimentação, pastejo em azevém, sistema rotacionados de pastoreio, no intervalo entre ordenhas e oferta de concentrado (conforme produção de leite, 16%) mais 10 kg de silagem de milho por dia, diferindo apenas entre os tratamentos a inclusão de 10% (base MS) ou não (controle) de glicerina bruta. A glicerina bruta utilizada era líquida, de textura oleosa e coloração amarelo escura, comercializada pela empresa Três Tentos Agroindustrial S/A de Ijuí-RS. Os animais eram ordenhados mecanicamente duas vezes ao dia, às 7h e 17h, e recebiam o alimento concentrado misturado à silagem e glicerina em canzins individuais, com cochos separados, logo após a ordenha no período da manhã e antes da ordenha no período da tarde. Durante o tempo restante, os animais permaneciam nas áreas de pastagens, com livre acesso à água potável e acesso restrito à sombra.

Amostras de sangue foram coletadas de todos os animais ao final de cada período experimental por punção da veia ou artéria coccígea, utilizando-se tubos vacuolizados com anticoagulante (EDTA de potássio como anticoagulante). As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas da UNIJUÍ para análise de hemograma. Os resultados foram compilados, verificando-se a ocorrência de alterações entre os blocos e tratamentos. Os valores obtidos foram submetidos à análise de comparação de médias (Teste t) para o efeito do bloco ou tratamento em relação aos limites para a espécie, considerando a média para cada parâmetro nos três períodos, sendo significativo $P < 0,05$.

Resultados e Discussão:

O acompanhamento através do perfil hematológico é uma importante ferramenta que pode ser utilizada para monitorar a saúde de bovinos leiteiros e auxiliar na interpretação destes parâmetros frente a diversas patologias (CAMPOS et al., 2008). A inclusão do glicerol na dieta das vacas

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXI Jornada de Pesquisa

lactantes não causou nenhuma alteração na série vermelha, portanto neste caso não houve diferença entre os tratamentos nem entre os períodos em lactação. Na tabela 1 está representado o eritrograma de vacas holandesas em diferentes fases de lactação submetidas ou não à dieta com inclusão de glicerina bruta.

TABELA 1: Eritrograma de vacas da raça holandesa, submetidas à dieta com inclusão ou não de glicerina bruta.

Série Vermelha	Período de Lactação	Com Glicerol	Sem Glicerol	Referências
Eritróctos (milhões/mm ³)	60-120 dias	6,6 ^{ab}	6,7 ^{ab}	5 a 10 ^{ab}
	121-200 dias	6,3 ^{ab}	6,6 ^{ab}	
	201-320 dias	6,6 ^{ab}	6,5 ^{ab}	
Hemoglobina (g/dL)	60-120 dias	11,4 ^{ab}	11,3 ^{ab}	8 a 15 ^{ab}
	121-200 dias	10,4 ^{ab}	10,7 ^{ab}	
	201-320 dias	11,2 ^{ab}	11,0 ^{ab}	
Hematócrito (%)	60-120 dias	30,1 ^{ab}	30,2 ^{ab}	24 a 46 ^{ab}
	121-200 dias	28,1 ^{ab}	28,8 ^{ab}	
	201-320 dias	29,5 ^{ab}	29,0 ^{ab}	
Volume corpuscular médio (VCM) (%)	60-120 dias	46,1 ^{ab}	45,1 ^{ab}	40 a 60 ^{ab}
	121-200 dias	44,4 ^{ab}	43,7 ^{ab}	
	201-320 dias	44,8 ^{ab}	44,6 ^{ab}	
Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (%)	60-120 dias	37,9 ^{ab}	37,3 ^{ab}	30 a 36 ^{ab}
	121-200 dias	37,0 ^{ab}	37,2 ^{ab}	
	201-320 dias	37,9 ^{ab}	38,0 ^{ab}	

*Letras minúsculas iguais entre colunas indicam que não há diferença entre tratamentos em relação ao valor de referência. Letras maiúsculas iguais entre linhas indicam que não há diferença entre blocos (período de lactação).
P<0,05

Ao avaliar os parâmetros para a espécie em relação aos dados obtidos verifica-se que os valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito e VCM encontram-se dentro do limite estabelecido, porém os valores da CHCM independente do tratamento os animais apresentam valores acima da média. De acordo com Thrall et al. (2006) os eritrócitos possuem morfologia variável em cada espécie, são células arredondadas e relativamente bicôncavas na maioria das espécies de mamíferos. A principal função é conduzir a hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio aos tecidos. A hemoglobina é uma proteína conjugada formada de 96% de proteínas (globinas) e por um grupo prostético de coloração vermelho chamado heme (4%), o qual é formado por ferro e grupamentos porfirínicos. Define-se por hematócrito (ou volume globular) a porcentagem de eritrócitos que está presente no sangue (LOPES et al., 2007). O VCM é um índice que indica o tamanho médio dos eritrócitos, por sua vez, se este padrão estiver aumentado, normal ou diminuído, determina que as células estejam macrocíticas, normocíticas ou microcíticas. Já CHCM expressa uma medida da concentração de hemoglobina nas hemácias, se estiver normal ou diminuído, define se o eritrócito é normocrômico ou hipocrômico (VAL BICALHO e CARNEIRO, 2005). Aparentemente o aumento na CHCM ocorre pela hemólise intravascular ou durante a coleta ou a manipulação. Valores significativamente elevados de CHCM devem sempre ser considerados como erro (BUSH, 2004).

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXI Jornada de Pesquisa

Nos animais que estavam recebendo glicerol na dieta não foram observadas nenhuma alteração na série branca, já nos animais que não estavam recebendo adição de glicerol na dieta foi possível visualizar alterações em relação à série branca, portanto neste caso houve diferença entre os tratamentos e o período em lactação. Na tabela 2 está representado o leucograma de vacas holandesas em diferentes fases de lactação submetidas ou não à dieta com glicerina bruta.

TABELA 2: Leucograma de vacas da raça holandesa, submetidas à dieta com inclusão ou não de glicerina bruta.

Série Branca	Período de Lactação	Com Glicerol	Sem Glicerol	Referências
Leucócitos Totais (/mm ³)	60-120 dias	9757,1 ^{ab}	9966,7 ^{ab}	4000 a 12000 ^{ab}
	121-200 dias	8744,4 ^{ab}	9300,0 ^{ab}	
	201-320 dias	10900,0 ^{ab}	9155,6 ^{ab}	
Neutrófilos não segmentados (/mm ³)	60-120 dias	0,0 ^{ab}	150,0 ^{ab}	0 a 120 ^{ab}
	121-200 dias	83,0 ^{ab}	55,0 ^{ab}	
	201-320 dias	101,5 ^{ab}	88,0 ^{ab}	
Neutrófilos segmentados (/mm ³)	60-120 dias	2533,0 ^{ab}	4090,3 ^{ab}	600 a 4000 ^{ab}
	121-200 dias	3552,7 ^{ab}	4426,3 ^{ab}	
	201-320 dias	3558,8 ^{ab}	3683,4 ^{ab}	
Monócitos (/mm ³)	60-120 dias	64,0 ^{ab}	155,0 ^{ab}	25 a 840 ^{ab}
	121-200 dias	97,3 ^{ab}	0,0 ^{ab}	
	201-320 dias	132,3 ^{ab}	192,7 ^{ab}	
Linfócitos (/mm ³)	60-120 dias	6739,3 ^{ab}	5356,2 ^{ab}	2500 a 7500 ^{ab}
	121-200 dias	4530,7 ^{ab}	4301,0 ^{ab}	
	201-320 dias	6839,3 ^{ab}	5068,6 ^{ab}	
Eosinófilos (/mm ³)	60-120 dias	475,7 ^{ab}	469,0 ^{ab}	0 a 2400 ^{ab}
	121-200 dias	608,7 ^{ab}	561,0 ^{ab}	
	201-320 dias	420,6 ^{ab}	1008,0 ^{ab}	
Basófilos (/mm ³)	60-120 dias	0,0 ^{ab}	0,0 ^{ab}	0 a 200 ^{ab}
	121-200 dias	0,0 ^{ab}	0,0 ^{ab}	
	201-320 dias	0,0 ^{ab}	0,0 ^{ab}	
Plaquetas (10 ⁹ /L)	60-120 dias	382,4 ^{ab}	469,0 ^{ab}	100 a 800 ^{ab}
	121-200 dias	360,6 ^{ab}	432,4 ^{ab}	
	201-320 dias	360,3 ^{ab}	371,8 ^{ab}	
PPT (g/dL)	60-120 dias	8,2 ^{ab}	8,3 ^{ab}	7 a 8,5 ^{ab}
	121-200 dias	8,2 ^{ab}	8,4 ^{ab}	
	201-320 dias	7,9 ^{ab}	7,8 ^{ab}	

*Letras minúsculas diferentes entre colunas indicam que há diferença entre tratamentos em relação ao valor de referência. Letras maiúsculas diferentes entre linhas indicam que há diferença entre blocos (período de lactação). P<0,05.

De acordo com os resultados do leucograma foi possível observar que as vacas que não estavam recebendo glicerol na dieta com dias em lactação (DEL) entre 60 a 120, apresentaram alterações na série branca, verificando um aumento de neutrófilos não segmentados (bastonetes) e neutrófilos segmentados, designando desta forma um processo de neutrofilia com desvio à esquerda. As vacas que estavam com dias em lactação (DEL) entre 121 a 200 foram observadas apenas neutrofilia. Os neutrófilos são células divididas em neutrófilos adultos (maduros, segmentados), visto que esses compreendem a ampla maioria, já os neutrófilos bastonetes (imaduros, não segmentados) estão normalmente presentes em pequena quantidade. Estas células estão presentes na circulação,

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXI Jornada de Pesquisa

marginados nas paredes dos capilares, principalmente nos pulmões e parcialmente no fígado e baço (BUSH et al., 2004). Os neutrófilos são as principais células de defesa do organismo contra infecções e reações inflamatórias (VAL BICALHO e CARNEIRO, 2005), o aumento no número de neutrófilos na circulação (neutrofilia) ocorre na presença de inflamação principalmente por infecções bacterianas agudas, glicorticóides tanto endógenos como exógenos e também por distúrbios mieloproliferativos que é a produção desregulada de neutrófilos na medula óssea (BUSH et al., 2004). Ao ser avaliado o leucograma também é possível verificar que de acordo com os resultados apresentados os animais com dias em lactação (DEL) de 60-120 apresentaram desvio a esquerda regenerativo. Segundo Val Bicalho e Carneiro (2005) juntamente a estas células são propostos os desvios, que o mesmo pode ocorrer para a direita ou esquerda, descrevendo assim, as alterações que ocorre na circulação sanguínea. No desvio à esquerda ocorre o aumento de neutrófilos não segmentados, ou seja, neutrófilos imaturos no sangue. Este desvio é acompanhado de neutrofilia, o que indica um aumento maior na demanda de neutrófilos devido a uma lesão inflamatória agressiva (THRALL et al., 2006). O processo regenerativo é quando o número de neutrófilos adultos excede o número de neutrófilos imaturos. Se a medula óssea não estiver apta a suprir esta demanda, ocasionará um desvio a esquerda regenerativo (BUSH et al., 2004), já no desvio à direita ocorre um aumento no número de neutrófilos hipersegmentados na circulação, este aumento indica que os neutrófilos estão permanecendo por mais tempo na circulação sanguínea. Este processo pode ser ocasionado devido à presença de corticosteróides, que fazem a redução dos movimentos dos neutrófilos para os tecidos, pela deficiência de vitamina B12, causando redução na divisão celular e também surge como um erro por armazenamento prolongado de amostras de sangue (BUSH et al., 2004). De acordo com Thrall (2006) a interpretação das contagens de leucócitos do sangue auxilia e permite a compreensão sobre as possíveis disfunções que podem acometer os animais.

Conclusão:

Neste trabalho é possível concluir que a inclusão de glicerina bruta na dieta de vacas holandesas em diferentes períodos de lactação não causa nenhuma alteração significativa em relação ao perfil hematológico.

Palavras Chave: Hemograma; Glicerol; Bovinos de Leite.

Agradecimentos: Três Tentos Agroindustrial S/A, CNPq (apoio recursos projeto: Edital Universal), ao BIOCLIN.

Referências Bibliográficas:

BUSH, B. M. Interpretação de Resultados Laboratoriais para Clínicos de Pequenos Animais. São Paulo: ROCA, 375p., 2004.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXI Jornada de Pesquisa

CAMPOS, R. et al. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil, *Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science*, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 354-361, 2008.

CHUNG, Y. H. et al. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. *Journal Dairy Science*, v. 90, n. 12, p. 5682-5691, 2007.

CUNHA, C. M. et al. Glicerina Bruta na Alimentação de Ruminantes. *Enciclopédia Biosfera*, v. 10, p. 1872-1888, 2014.

FÁVARO, V. R. Utilização de glicerina, subproduto do Biodiesel, na alimentação de bovinos. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Jaboticabal, 2010.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. *Manual de Patologia Clínica Veterinária*. 3a ed. Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 117p., 2007.

MEIRELLES, J. P. et al. Padrões hematológicos de vacas leiteiras no período de transição. *Grupo Cultivar*, 5p., 13 nov., 2009.

MENTEN, J. F. M.; MIYADA, V. S.; BERENCHTEIN, B. Glicerol na alimentação animal. In: *Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos*, 2008, Campinas, SP. *Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos*. Campinas, SP: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p. 101-114., 2008.

THRALL, M. A. et al. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo: ROCA, 581p., 2006.

VAL BICALHO, A. P. C.; CARNEIRO, R. A. *Apostila de Patologia Clínica*. Belo Horizonte: Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 85p., 2005.