

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Escola de Veterinária**  
**Programa de Pós-graduação em Ciência Animal**

Thiago Augusto de Souza Silva

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE E  
ELETROLÍTICO DE BEZERROS INOCULADOS COM *EIMERIA ZUERNII*  
TRATADOS OU NÃO COM MONENSINA SÓDICA**

Belo Horizonte  
2015

Thiago Augusto de Souza Silva

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE E  
ELETROLÍTICO DE BEZERROS INOCULADOS COM *EIMERIA ZUERNII*  
TRATADOS OU NÃO COM MONENSINA SÓDICA**

**Versão Final**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Elias Jorge Facury Filho

Belo Horizonte  
2015

Silva, Thiago Augusto de Souza, 1986 -  
S586a Avaliação Clínica, hematológica e do equilíbrio Ácido-base e Eletrolítico, de Bezerros inoculados com Eimeria Zuernil tratados ou não com Monensina Sódica / Thiago Augusto de Souza Silva.- 2015.  
83 f. il.

Orientador: Elias Jorge Facury Filho  
Dissertação (Mestrado) apresentada a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas  
para obtenção do Título de Mestre  
Área de concentração: Medicina e cirurgia Veterinária  
Inclui bibliografia f. 70 - 83

1. Eimeria - Teses – 2. Diarreia em animais – Teses – 3. Bezerros - Teses – I. Filho, Elias Jorge Facury,  
II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.089 7


Bibliotecário responsável Marcio Alves dos Santos CRB 3589/0  
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.


## FOLHA DE APROVAÇÃO

**THIAGO AUGUSTO DE SOUZA SILVA**

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau e MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Aprovada em 28 de Abril de 2015, pela banca constituída pelos membros:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Elias Jorge Facury Filho  
Presidente - Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Antônio Último de Carvalho  
Escola de Veterinária - UFMG

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Moises Dias de Freitas  
Faculdades INTA - Sobral - CE

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Nélia Angélica Gonçalves da Silveira  
Escola de Veterinária - UFMG

*“A ignorância gera mais confiança do que o conhecimento: são os que sabem pouco, e não os que sabem muito, que afirmam positivamente que esse ou aquele problema nunca pode ser resolvido pela ciência”*

**Charles Darwin**

*“Nem os muito sábios conseguem enxergar tudo”*

**J. R. R. Tolkien**

## RESUMO

A eimeriose bovina é uma doença do sistema digestivo causada por coccídeos do gênero *Eimeria* spp. É uma patologia de alta prevalência em rebanhos do mundo todo, podendo infectar, em alguns casos, 100% dos animais. Por este motivo, a eimeriose pode acarretar grandes perdas econômicas, tanto pela morte quanto pela queda de potencial produtivo dos animais doentes, além dos custos adicionais com o tratamento. Embora os medicamentos coccideostáticos sejam amplamente utilizados para controle e prevenção dessa doença, pouco se sabe a respeito das implicações do seu uso nos parâmetros hemogasométricos e de hemograma em bezerros jovens. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da administração de monensina sódica na alimentação de bezerros, inoculados com *Eimeria zuernii*, sobre os parâmetros clínicos, hemogasométricos e de hemograma ao longo dos 10 primeiros dias de eliminação de oocistos pelas fezes. Foram coletadas amostras de fezes e sangue dos animais em cinco momentos distintos, durante a fase patente da doença, sendo esses materiais submetidos a análises laboratoriais pertinentes. A administração de monensina sódica diminuiu a eliminação e contagem de oocistos por grama de fezes em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), assim como, evitou o aumento dessa contagem durante os momentos analisados. Adicionalmente, preveniu o aumento da temperatura corporal ( $p < 0,05$ ), do escore de fezes, do escore de comportamento e das frequências cardíacas e respiratórias. Por diminuir a gravidade do quadro de diarreia nos bezerros, a administração de monensina sódica a estes animais evitou a queda do pH sanguíneo, a diminuição da concentração sérica de  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{TCO}_2$  e  $\text{PCO}_2$  e a diminuição do excesso de bases ( $p < 0,05$ ). Não houve alterações nos valores desses parâmetros ao longo dos cinco momentos analisados, no grupo tratado ( $p > 0,05$ ). Além disso, o medicamento, impediu a queda nas concentrações plasmáticas de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{++}$ , e o consequente aumento do  $\text{K}^+$  (hipercalemia relativa) ( $p < 0,05$ ). A monensina sódica evitou ainda, alterações nos parâmetros de eritrograma (Hct, Hgb, VCM, HCM, CHCM e RDW), bem como, impediu indiretamente, o aumento da contagem total de macrófagos e eosinófilos, por diminuir a carga infectante do coccídeo estudado, quando se comparou o grupo tratado e não tratado ( $p < 0,05$ ). Por fim, os bezerros inoculados com *Eimeria zuernii* e tratados com monensina sódica, foram menos frequentes, de forma geral, em apresentar parâmetros fora do limiar fisiológico nas variáveis estudadas quando comparados com os bezerros não tratados ( $p < 0,05$ ).

Palavras chaves: *Eimeria zuernii*, diarreia, monensina, hemogasometria, hemograma.

## ABSTRACT

Bovine eimeriosis is a disease of the digestive system caused by coccidia of the genus *Eimeria* spp.. It is a disease with high prevalence in herds around the world, which can infect, in some cases, 100% of animals. The eimeriosis causes economic losses by animal death and potential drop production of sick animals, besides the additional costs of treatment. Although, coccideostáticos drugs are widely used for the control and prevention of this disease, scientific knowledge about the implications of their use on blood gas parameters and blood count in young calves is insufficient. The aim of this study was to evaluate the influence of monensin administration in calves inoculated with *Eimeria zuernii*, on clinical parameters, blood gas and blood count on the first 10 days of oocysts elimination. Blood and stool samples of the animals were collected at five different times during the patent phase of the disease. The administration of monensin decreased oocysts elimination in the control group ( $p < 0.05$ ), as well prevented the increase of this count during the moments. Additionally, prevent the increase in body temperature ( $p < 0.05$ ), fecal score, the behavior score, cardiac and respiratory frequency. The administration of monensin avoided, compared with the control group, the fall of blood pH, decreased serum  $\text{HCO}_3^-$ , the decrease in base excess, and increasing  $\text{TCO}_2$  and  $\text{PCO}_2$  ( $p < 0.05$ ). There were no changes in the values of these parameters over the five time moments analyzed on the treated group ( $p > 0.05$ ). Moreover, the drug has prevented the fall in plasma  $\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^{++}$ , and the consequent increase in  $\text{K}^+$  (relative hyperkalemia) ( $p < 0.05$ ). The monensin also prevented, changes in hematological parameters (Hct, Hgb, MCV, MCH, MCHC and RDW), and, prevented indirectly increasing the total count of macrophages and eosinophils, when comparing the two groups ( $p < 0.05$ ). Finally, the calves inoculated with *Eimeria zuernii* and treated with monensin, were less frequent to exhibit the physiological parameters outside the thresholds ( $p < 0.05$ ).

Keywords: *Eimeria zuernii*, diarrhea, monensin, blood gas analysis, blood count.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Temperaturas Diárias (máxima, média, mínima), estação Belo Horizonte (MG) – 12/2013	47
Figura 2- Temperaturas Diárias (máxima, média, mínima), estação Belo Horizonte (MG) – 01/2014	47
Figura 3- Temperaturas Diárias (máxima, média, mínima), estação Belo Horizonte (MG) – 02/2014	48

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico1- Dinâmica da eliminação de oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> (OoPG) em bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida, tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, durante os primeiros dez dias de eliminação de oocistos nas fezes.	43
Gráfico 2- Evolução do Escore de fezes de bezerros, inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>E. zuernii</i> , tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, durante os primeiros dez dias de eliminação de oocistos nas fezes. (1: Fezes normais, 2: fezes pastosas, 3: fezes liquefeitas, 4: fezes com traços de sangue, 5: fezes com predominância de sangue).	45
Gráfico 3- Evolução da temperatura retal de bezerros, inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	49
Gráfico 4- Evolução dos parâmetros clínicos, escore de comportamento, escore de desidratação, frequência cardíaca e frequência respiratória, de bezerros, inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	50
Gráfico 5- Comportamento do pH sanguíneo médio de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	55
Gráfico 6- Comportamento do HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> sérico médio de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	56
Gráfico 7 - Comportamento do PCO <sub>2</sub> médio de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	57
Gráfico 8 - Comportamento de BE média de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos <i>Eimeria zuernii</i> e tratados ou não com monensina nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos..	58
Gráfico 9 - Comportamento de Na <sup>+</sup> médio sérico de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	60



Gráfico 10-	Comportamento de K <sup>+</sup> médio sérico de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	61
Gráfico 11-	Comportamento de Ca <sup>++</sup> médio sérico de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	62
Gráfico 12-	Comportamento do Hematócrito médio de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	65
Gráfico 13-	Comportamento da concentração de hemoglobina média d de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	66
Gráfico 14-	Comportamento dos parâmetros de leucograma, linfócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	68

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Parâmetros hematológicos de bezerros da raça holandesa, de 1 a 30 dias de idade.	30
Tabela 2-	Parâmetros fisiológicos de contagem diferencial de leucócitos de bezerros holandeses com idade entre 1 a 30 dias.	35
Tabela 3-	Escore de fezes, comportamento e desidratação e parâmetros para enquadramento.	39
Tabela 4-	Valores médios, erro esperado e intervalo de confiança das concentrações séricas eletrolíticas (Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ), gasométricas, pH, excesso de base (EB), janela aniônica, hematócrito, hemoglobina, de bezerros hígdos com idades variadas de três a trinta dias de idade.	40
Tabela 5-	Evolução da eliminação média de ocistos por grama de fezes de bezerros inoculados experimentalmente com <i>E. zuernii</i> durante os primeiros dez dias de eliminação.	44
Tabela 6-	Comportamento da temperatura retal de bezerros, inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria. zuernii</i> , tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	46
Tabela 7-	Valores médios de pH, PCO <sub>2</sub> , BE, HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , TCO <sub>2</sub> no sangue de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.	52
Tabela 8-	Valores médios do período de PH, PCO <sub>2</sub> , BE, HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e TCO <sub>2</sub> , de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de <i>Eimeria zuernii</i> , tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos primeiros 10 dias após o início da eliminação de oocistos.	54
Tabela 9-	Valores de concentrações médias de Na, K e Ca, e frequência de valores encontrados fora do limiar fisiológico de bezerros inoculados	59

experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

Tabela 10- Valores médios de Hct, Hgb, VCM, HCM, CHCM e RDW e frequência de valores encontrados fora do limiar fisiológico. de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos 63

Tabela 11- Valores médios de contagem de linfócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos e frequência de animais com valores fora do limite fisiológico (F)., de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos 66

## LISTA DE ABREVIATURAS

µL Microlitros

AG Diferença Aniônica

BE Excesso de Bases

BUN Uréia Nitrogenada

CHCM Concentração de Hemoglobina Celular Média Celular Média

Cl- Cloro

CO<sub>2</sub> Dióxido de Carbono

Cu Cobre

dL Decilitros

EDTA ácido etilenodiamino tetra-acético

FC Frequência Cardíaca

Fe Ferro

FR Frequência Respiratória

g Grama

H<sup>+</sup> Hidrogênio

H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Ácido Carbônico

H<sub>2</sub>O Água

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Íon Bicarbonato

HCM Hemoglobina corpuscular média

Hct Hematócrito

Hgb Concentração de hemoglobina

Ht% % de hematócrito

K<sup>+</sup> Potássio

L Litro

LEC Líquido Extracelular

LIC Líquido Intracelular

mg Miligrama

mL Mililitros

mmHg Milímetros de Mercúrio

mmol Milimoles

Na<sup>+</sup> Sódio

NH<sub>3</sub> Uréia

O<sub>2</sub> Oxigênio

OoPG Oocistos por grama de fezes

pCO<sub>2</sub> Pressão Parcial de Dióxido de Carbono

RDW Distribuição Espacial das Células Vermelhas

SMF Sistema Monocítico Fagocitário  
tCO<sub>2</sub> Dióxido de Carbono Total  
TR Temperatura Retal  
VCM Volume Celular Médio

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1. Objetivo geral .....	14
2.2. Objetivos específicos.....	14
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
3.1. Eimeriose .....	15
3.1.1. Ciclo parasitário e patogenia .....	16
3.1.2. Imunologia .....	17
3.1.3. Diagnóstico .....	19
3.1.4. Tratamento .....	20
3.1.5. Controle .....	21
3.1.5.1. Monensina .....	22
3.2. Homeostase .....	22
3.2.1. Sódio (Na+) .....	23
3.2.2. Potássio (K+) .....	25
3.3. Equilíbrio Ácido-Base .....	26
3.3.1. Pressão parcial de Dióxido de Carbono (PCO <sub>2</sub> ) .....	27
3.3.2. Íons Bicarbonato (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) .....	27
3.3.3. Dióxido de Carbono total (tCO <sub>2</sub> ) .....	28
3.3.4. Excesso de Bases (BE) .....	28
3.4. Parâmetros Hematológicos .....	29
3.4.1. Hematócrito (Hct).....	30
3.4.2. Hemoglobina (Hgb).....	31
3.4.3. Índices Hematimétricos .....	31
3.4.3.1. Volume Corpuscular Médio (VCM) .....	31
3.4.3.2. Concentração de Hemoglobina Celular Média (CHCM) .....	32
3.4.4. Leucograma .....	33
3.4.4.1. Leucopoiose .....	33
3.4.4.2. Características celulares .....	34
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>36</b>
4.1. Local e período .....	36
4.2. Animais .....	36
4.3. Ambiente .....	36
4.4. Manejo .....	37
4.5. Origem do inóculo .....	37
4.6. Inoculação .....	38
4.7. Administração de monensina .....	38
4.8. Exame clínico .....	39
4.9. Coleta e análise de amostras.....	39
4.9.1. Oopg .....	39
4.9.2. Hemograma .....	39
4.9.3. Hemogasometria .....	40
4.10. Delineamento experimental e análise estatística .....	41
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
5.1. Resultado do método de inoculação .....	41
5.2. Resultado de OoPG e escore de fezes .....	42
5.3. Exames clínicos .....	46
5.4. Equilíbrio Ácido-base .....	52
5.5. Equilíbrio eletrolítico .....	59
5.6. Eritrograma .....	63
5.7. Leucograma .....	66
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>69</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>70</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A eimeriose bovina é uma doença do sistema digestivo causada por coccídeos do gênero *Eimeria* spp.. São descritas na literatura pelo menos 20 espécies de *Eimeria* spp. em bovinos, (Fitzgerald, 1980; Taylor and Catchpole, 1994; Dauschies *et al.*, 2004), sendo a maioria considerada inofensiva à saúde do animal. Por outro lado, pelo menos seis espécies já foram relatadas como causadoras de lesões intestinais e perdas econômicas às atividades de bovinocultura. Dentre elas, *Eimeria bovis* e *Eimeria zuernii*, como as de maior potencial patogênico (Stockdale *et al.*, 1981; Burger, 1983; Chibunda *et al.*, 1997), *Eimeria alabamensis*, que induz diarreia em condições de campo (Svensson *et al.*, 1993, Svensson *et al.*, 1994; Marshall *et al.*, 1998; Svensson, 2000), *Eimeria auburnensis*, *Eimeria ellipsoidalis* e *Eimeria subspherica* (Mielke *et al.*, 1993).

A Eimeriose apresenta alta prevalência no rebanho e, em alguns casos, pode atingir 100% dos animais (Cornelissen *et al.*, 1995). Por este motivo, a eimeriose pode acarretar grandes perdas econômicas, tanto pela morte quanto pela queda do potencial produtivo dos animais doentes, além dos custos adicionais com o tratamento (Fitzgerald, 1980; Burger, 1983; Grafner *et al.*, 1985b). Estima-se que o custo mundial anual da eimeriose seja equivalente a 400 milhões de dólares (Matijila e Penzhorn, 2002). Além disso, animais que sobrevivem a infecções severas por *Eimeria* spp. apresentam retardo de crescimento e, comumente, não alcançam seu real potencial produtivo (Fox, 1985).

A eimeriose é uma doença auto limitante que tem sua resolução quando o ciclo reprodutivo intestinal do parasita se finaliza. Os animais severamente infectados apresentam diarreia profusa, com eliminação de sangue, fibrinogênio e tecido intestinal nas fezes (Stockdale *et al.*, 1981; Burger, 1983; Dauschies *et al.*, 1986). Por ser uma espécie de *Eimeria* sp. altamente patogênica, a *E. zuernii* pode levar à desidratação profunda, acarretada pela perda de água nas fezes (Stockdale *et al.*, 1981).

Em um quadro diarreico, além da perda excessiva de água nas fezes, há também aumento da eliminação de sódio, potássio, cloretos e bicarbonatos. A perda desses íons resulta em hiposmolaridade plasmática, assim como nos fluidos extracelulares, podendo levar a um quadro de acidose metabólica (Naylor, 1999). Essa acidose metabólica é causada principalmente pela perda do íon bicarbonato por meio das fezes, sendo esse íon o principal responsável pelo tamponamento de ácidos orgânicos gerados pelo metabolismo (Tennant *et al.*, 1972). Nesse sentido, a avaliação hemogasométrica e hidroeletrolítica dos animais doentes pode ser uma importante ferramenta de diagnóstico na eimeriose, assim como de tratamento.

Adicionalmente, a eimeriose por *E. zuernii* pode levar a perda de sangue e tecido intestinal pelas fezes. Por este motivo, são comuns nos quadros de eimeriose alterações de hemogramas, sendo esse exame usado tanto como parâmetro para avaliação da gravidade da infecção nos animais doentes quanto para o direcionamento do raciocínio clínico na escolha do tratamento mais adequado ao animal (Roland *et al.*, 2014).

Usualmente, produtos coccidioestáticos a base de monensina são usados na prevenção e controle da eimeriose em bezerros, sendo esse medicamento capaz de evitar perdas do potencial produtivo dos animais doentes e, conseqüentemente, perdas econômicas à propriedade. Embora os resultados do uso da monensina sejam amplamente descritos na literatura, não há conhecimento a respeito das alterações hemogasométricas e de hemograma associadas ao uso deste medicamento na alimentação de bezerros. Nesse sentido, o estudo comparativo dos parâmetros hemogasométricos e de hemograma entre bezerros tratados e não tratados com monensina se faz necessário, tanto para o conhecimento científico, quanto para a sustentação do uso deste medicamento a campo.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

- Avaliar a influência da administração de monensina sódica na alimentação de bezerros, inoculados com *Eimeria zuernii*, sobre os parâmetros clínicos, hemogasométricos e de hemograma.

### 2.2. Objetivos específicos

- Comparar os parâmetros clínicos (Temperatura °C, escore de fezes, escore de comportamento, escore de desidratação, frequências cardíaca e respiratória) entre bezerros experimentalmente infectados por *Eimeria zuernii*, tratados ou não com monensina sódica, ao longo dos 10 primeiros dias de eliminação de oocistos pelas fezes.

- Comparar os parâmetros de equilíbrio ácido-base (pH,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{PCO}_2$ , BE e  $\text{TCO}_2$ ) entre bezerros experimentalmente infectados com *Eimeria zuernii*, tratados ou não com monensina sódica, ao longo dos dez primeiros dias de eliminação de oocistos pelas fezes.

- Comparar os parâmetros de equilíbrio eletrolítico ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{++}$ ) entre bezerros experimentalmente infectados com *Eimeria zuernii*, tratados ou não com monensina sódica, ao longo dos 10 primeiros dias de eliminação de oocistos pelas fezes.

- Comparar os parâmetros de eritrograma (Hct, Hgb, VCM, HCM, CHCM e RDW) entre bezerros experimentalmente infectados com *Eimeria zuernii*, tratados ou não com monensina sódica, ao longo dos 10 primeiros dias de eliminação de oocistos pelas fezes.

- Comparar os parâmetros de leucograma (Contagem de leucócitos, basófilos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos) entre bezerros experimentalmente infectados com *Eimeria zuernii*, tratados ou não com monensina sódica, ao longo dos 10 primeiros dias de eliminação de oocistos pelas fezes.

- Determinar e comparar a frequência de animais, tratados ou não com monensina sódica, que apresentam parâmetros clínicos, hemogasométricos e de hemograma, fora dos limiares fisiológicos.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Eimeriose

Há na literatura mais de 900 espécies de *Eimeria* conhecidas, sendo classificadas como pertencentes ao Filo Apicomplexa, Classe Esporozoasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Subordem Eimeriorina, Família Eimeriidae e Gênero *Eimeria* (Levine e Ives, 1973). Esses parasitas são encontrados em anfíbios, répteis, aves e mamíferos, sendo que há especificidade parasitária entre o parasito e o hospedeiro. Dessa forma, um animal comumente é infectado por mais de uma espécie de *Eimeria* spp., mas dificilmente uma espécie de *Eimeria* spp. parasita mais de uma espécie de hospedeiro (Kogut, 1993). Além desse fato, as espécies do gênero *Eimeria* apresentam especificidade pelo tipo celular, tecido e órgão (Fernando, 1993).

Por ter uma ampla diversidade de espécies, *Eimeria* spp. apresentam grande variação quanto ao seu potencial patogênico. A *Eimeria* spp. pode ser classificada em altamente patogênica, de média patogenicidade e de patogenicidade nula (Bhatia, 1992). Há relatos de 20 espécies de *Eimeria* spp. capazes de parasitar os bovinos, sendo que apenas seis levam o animal a um quadro patológico (Fitzgerald, 1980; Taylor and Catchpole, 1994; Dauschies *et al.*, 2004).

Dentre as espécies consideradas patológicas em bovinos, destaca-se *Eimeria zuernii* como a que possui maior capacidade de causar doença clínica grave, juntamente com *Eimeria bovis* (Stockdale *et al.*, 1981; Burger, 1983; Chibunda *et al.*, 1997). Infecções experimentais com *E. zuernii* são associadas a quadros de diarreia profusa com eliminação de sangue e debrís intestinais por meio das fezes, aumento de temperatura retal, dor abdominal, tenesmo, anemia, desidratação, fraqueza, apatia, anorexia, perda de peso e em alguns casos coma e morte (Stockdale *et al.*, 1981; Burger, 1983; Dauschies *et al.*, 1986; Bangoura e Dauschies, 2007). Entretanto, todos os trabalhos consultados conseguiram reproduzir quadros clínicos de eimeriose somente mediante administração de corticoides, para depressão do sistema imune dos animais.

Nos quadros em que são observadas diarreia sanguinolenta por *E. zuernii*, tanto em campo quanto experimentalmente, a diarreia hemorrágica pode perdurar por até 36 dias em alguns bezerros, porém, em média, 10 dias após da eliminação de oocistos há regressão do quadro (Bohrmann, 1991). Entretanto, somente em casos de hemorragia severa ou extremamente extensa, alterações no hematócrito e hemoglobina são observadas (Dauschies *et al.*, 1986).

Nos casos em que ocorre anemia, com conseqüente alteração dos parâmetros de hemograma, a taxa de mortalidade dos animais enfermos pode chegar a 20% (Fox, 1985; Pilarczyk *et al.*, 1999). Por outro lado, nos animais que não apresentam diarreia hemorrágica, essa taxa chega a 7%, sendo que, os animais com maior grau de desidratação apresentam maior risco de morte (Fox, 1985; Pilarczyk *et al.*, 1999). Os animais que sobrevivem pelas primeiras 4



semanas de infecção por *E. zuernii* podem se recuperar, porém com possibilidade de nunca alcançarem seu potencial produtivo (Stockdale *et al.*, 1981). Além disso, esses animais parecem sofrer de uma debilitação do sistema imune que os deixa susceptíveis a episódios mais graves de enfermidades ocasionadas por outros enteropatógenos (Dauguschies e Najdrowski 2005).

### 3.1.1. Ciclo Parasitário e Patogenia

*Eimeria* spp. possuem um ciclo parasitário semelhante, composto por uma fase interna e uma fase externa ao hospedeiro. Todas as espécies são parasitas monoxênicos, ou seja, infectam somente um hospedeiro para completar seu ciclo biológico. Por serem coccídeos espécie específicos, para que haja a infecção por *Eimeria* spp. é necessária a ingestão de oocistos maduros adaptados ao hospedeiro (Gregory, 1993). Entretanto, estudos realizados com *E. bovis* in vitro, sugerem que oocistos liberados por essa espécie de *Eimeria* podem invadir tipos celulares diferentes e de vários hospedeiros (Hermosila *et al.*, 2002).

O oocisto infectante se rompe no trato gastrintestinal, após a sua ingestão, liberando os esporocistos. Ao alcançar o estômago, em contato com a tripsina gástrica, o esporocisto é ativado e, no intestino delgado, com o estímulo dos sais biliares, os esporozoítos são então liberados. O colostro possui grande quantidade de inibidores de tripsina, portanto, ao serem alimentados com essa substância, alguns bezerros podem inibir a infecção, por coibirem a liberação dos esporozoítos (Fagliar, 2006).

Após alcançarem o intestino delgado, os esporozoítos penetram a mucosa intestinal, por meio da borda estriada, sem grandes alterações em sua estrutura básica. Em seguida, atingem as glândulas de Lieberkuhn, após serem englobados e transportados por macrófagos (Behrendt *et al.*, 2004). Nas glândulas, os esporozoítos saem dos macrófagos e penetram as células epiteliais do intestino. A invasão das células hospedeiras é acompanhada pela liberação de antígenos originários das organelas presentes na região anterior dos esporozoítos. Esses antígenos são essenciais para o reconhecimento das células dos hospedeiros, penetração e formação do vacúolo parasitário (Heise *et al.*, 1999). No interior das células, cada esporozoíto se multiplica assexuadamente, formando o esquizogonte, que dá origem a milhares de merozoítos de primeira geração (média de 105 merozoítos por esquizogonte). Nesse estágio de seu desenvolvimento, os parasitas são particularmente grandes, podendo ser diagnosticados a olho nu.

Finalmente, os merozoítos de primeira geração rompem as células hospedeiras e se locomovem para células do intestino grosso, as quais são invadidas novamente, se reiniciando o processo de esquizogonia com formação da segunda geração de merozoítos. Os merozoítos liberados pela segunda ou terceira gerações se diferenciam em microgametócitos (gametas masculinos), e macrogametas (gametas femininos) internamente às células hospedeiras. Cada

microgametócito forma milhares de microgametas biflagelados que ao saírem do microgametócito penetram o macrogameta, o fertilizando e, por consequência, formando o zigoto. Esse zigoto é envolvido por uma membrana cística eosinofílica, dando origem ao oocisto jovem que rompe a célula hospedeira e abandona o organismo animal por meio das fezes (Dauguschies e Najdrowski 2005; Bastianetto 2010).

A quantidade de oocistos eliminados nas fezes aumenta proporcionalmente à carga parasitária infectante. Entretanto, estudos tem demonstrado que acima de uma certa concentração parasitária administrada, o número de oocistos eliminados não só não aumenta, como também pode diminuir. Isso provavelmente se deve ao aumento da competição parasitária na invasão às células hospedeiras. A esse fenômeno batizou-se “Fenômeno Crowding” (Dauguschies *et al.*, 2002).

Como o processo de reprodução assexuada não é contínuo, a doença é auto limitante, ao menos que ocorra nova infecção (Levine e Ives, 1973). Quando o oocisto imaturo é eliminado pelas fezes, e se aloja em alguma superfície com oxigênio e temperatura ideal para seu desenvolvimento, ocorre a fase de esporulação. Nessa fase, o oocisto imaturo se torna infectante, após a formação de quatro esporoblastos com dois esporocistos cada, através da divisão dos esporontes. Em condições aeróbicas e de temperatura ideal (20 a 30°C), esse processo ocorre em um a seis dias. A etapa do ciclo da *Eimeria* spp. que sucede dentro do hospedeiro, pode concluir-se de 10 a 25 dias e seu ciclo completo de 20 a 30 dias (Levine e Ives, 1973).

As lesões e sintomas apresentados em casos de eimeriose clínica são creditados a fase reprodutiva, de formação e multiplicação de merozoítos (Dauguschies *et al.*, 1986). Como para saírem das células hospedeiras, os merozoítos de primeira, segunda e ocasionalmente de terceira geração precisam romper a parede celular, são atribuídos a esse estágio os sintomas de dor abdominal, diarreia e sangue nas fezes. Os demais sintomas como, síndrome febril, apatia, anorexia, desidratação e morte, são também consequências diretas ou indiretas da destruição das células intestinais e da diarreia causada por essa destruição (Friend and Stockdale 1980).

### **3.1.2. Imunologia**

Posteriormente a uma infecção primária por *Eimeria* spp., é comum o desenvolvimento de imunidade pelos animais, e conseqüentemente, outras infecções não são acompanhadas pelo curso clínico da doença, apesar de alguns oocistos poderem ser eliminados pelas fezes, ocasionalmente (Dauguschies *et al.*, 1986; Svensson *et al.*, 1996). Apesar disso, se um animal permanecer sem contato com o parasita por um longo período de tempo, os quadros clínicos podem reaparecer depois da exposição. A manutenção do status imune contra as diversas

espécies de *Eimeria* spp. está correlacionada com uma constante exposição dos animais ao agente (Daugochies e Najdrowski 2005).

O grau de imunidade do animal depende da quantidade de oocistos presentes durante a infecção primária. A exposição a poucos ou a quantidades moderadas de oocistos pode não induzir ao estímulo antigênico necessário para o desencadeamento da resposta imune (Conlogue *et al.*, 1984; Burger *et al.*, 1995). Com relação a *E. zuernii*, a ingestão de 50.000 a 100.000 oocistos infectantes pode induzir ao desenvolvimento de uma resposta imune satisfatória para o controle da reinfecção. Porém, com a administração de 110 oocistos infectantes por dia, durante onze dias, é possível induzir à eimeriose de grau leve que leva a produção de imunidade contra desafios mais intensos. Esses anticorpos podem ser encontrados após o sétimo dia de infecção e permanecem ativos durante meses (Levine e Ives, 1973).

A imunidade contra *Eimeria* spp. se desenvolve 14 dias após o contato do indivíduo com a carga infectante, sendo que permanece ativa por até 3 meses em bezerros jovens. Essa reação imunológica desenvolve-se principalmente na mucosa do intestino grosso, e em menos grau no intestino delgado. É importante salientar que a imunização não reduz a frequência de eliminação de oocistos, e sim, a quantidade de oocistos excretados e a severidade da doença (Levine e Ives, 1973).

Os parasitos, ainda na forma de esporozoítos, se expõem aos líquidos intersticiais do hospedeiro após sua penetração nas células intestinais. Com isso, há ativação dos mecanismos de defesa do organismo animal, que, utilizam-se principalmente de células do sistema mononuclear fagocitário, macrófagos, monócitos, e linfócitos T. Esse é o principal mecanismo de defesa do organismo animal contra infecções por *Eimeria* spp. (Faber *et al.*, 2002). Foi observado acúmulo adicional de macrófagos no tecido intestinal de bezerros desafiados experimentalmente com *E. zuernii*, sendo indício da importância dos macrófagos nesse tipo de infecção (Taubert, *et al.* 2009). Além disso, animais parasitados com *E. bovis* apresentam um aumento significativo do número de monócitos circulantes, e sua atividade fagocítica e oxidativa, principalmente nas fases extracelulares do ciclo biológico do parasito. (Fiege *et al.*, 1992; Faber *et al.*, 2002). Após a fagocitose por essas células, há liberação de radicais oxidativos, interferons, e produção de citocinas, que são moléculas específicas que atraem células de defesa, entre elas células natural killers (NK), ao local da infecção e dão início a resposta humoral adquirida (Behrendt *et al.*, 2008).

Os níveis séricos de IgM, IgA e IgG2 aumentam diretamente com o número de oocistos excretados (Faber *et al.*, 2002), pois sua produção é estimulada pela concentração de mediadores liberados pelo sistema mononuclear fagocitário, porém, os níveis de IgG1 não se relacionam com a severidade da doença. A IgG2 é a principal defesa humoral do organismo contra infecções de

*Eimeria* spp. e sua produção é estimulada por células NK, monócitos e macrófagos, quando essas liberam interferon- $\gamma$  durante o combate a infecção (Faber *et al.*, 2002). Anticorpos de origem colostrar, particularmente subfrações de IgG1, IgG2 e IgGM, são transferidos aos bezerros e podem ser detectados no soro dos animais jovens infectados (Dauguschies e Najdrowski, 2005). Entretanto, há indícios que a variedade da resposta sorológica mediante essa infecção pode variar de acordo com a carga parasitária a que o indivíduo foi exposto (Fiege *et al.*, 1992).

### 3.1.3. Diagnóstico

O aumento no volume e no curso das fezes é o principal sintoma apresentado por animais infectados por *Eimeria* spp., entretanto, esse indício é inespecífico do ponto de vista clínico, tendo em vista que muitas outras patologias apresentam a diarreia como alteração clínica (Staschen *et al.*, 2003). Para a identificação da eimeriose, comumente é utilizado a observação e contagem de oocistos esporulados ao microscópio, através de técnicas de flutuação em soluções hipersaturadas de açúcar.

O número de oocistos eliminados pelas fezes não está, em todos os casos, relacionado diretamente com a severidade da infecção, pois, essa técnica pode perder sensibilidade em casos de diarreia severa, devido à diluição dos oocistos eliminados nas fezes (Lentze *et al.*, 1999). Além disso, em casos severos de eimeriose causados por *E. zuernii* e *E. bovis*, os oocistos podem ficar detidos em fibrina, tecido intestinal ou sangue, levando a menor contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG) através das técnicas convencionais (Dauguschies *et al.*, 1986; Busato *et al.*, 1998). Em casos de *E. alabamensis*, alguns animais podem começar a eliminar oocistos após o curso diarreico ter cessado, fato que pode levar a erros diagnósticos (Holst e Svensson, 1994; Matjila e Penzhorn, 2002).

Devido aos diferentes graus de patogenicidade entre as espécies de *Eimeria* spp., a simples identificação de oocistos nas fezes não permite a correlação entre sintomas clínicos apresentados pelo animal e diagnóstico definitivo de eimeriose. A correlação entre os sinais clínicos apresentados pelos animais, contagem elevada no exame de OoPG, e identificação da espécie de *Eimeria* envolvida, através de técnicas de esporulação, permite a maior precisão diagnóstica (Cornelissen *et al.*, 1995; Staschen *et al.*, 2003). Também, deve-se levar em consideração a ocorrência de outras patologias concomitantes ao curso da eimeriose (Busato *et al.*, 1998; Pilarczyk *et al.*, 1999). Para diagnóstico de rebanho, recomenda-se realizar um pool de fezes coletadas, e, se observada presença de oocistos de *Eimeria* spp., admitir-se que todo o lote teve contato com o micro-organismo e provavelmente está contaminado, mesmo se não apresentar sintomas, tendo em vista o período pré-patente da doença (Joachim, 2002).

Técnicas de diagnóstico sorológico podem ser utilizadas para identificar infecções, principalmente de *E. bovis*. Entretanto, a sorologia deve ser atenciosamente interpretada. Reações cruzadas de sorologia entre as várias espécies de *Eimeria* spp. são possíveis (Faber *et al.*, 2002). Adicionalmente, animais jovens, recém colostrados, apresentam atividade antigênica positiva aos exames devido aos anticorpos maternos passados a eles pelo colostro (Fiege *et al.*, 1992; Faber *et al.*, 2002). Além disso, animais que tenham sobrevivido a primo infecção desenvolvem anticorpos contra a doença, e seus resultados serão positivos mesmo quando curados (Faber *et al.*, 1992). De forma complementar, técnicas moleculares podem ser empregadas para identificação específica da *Eimeria* spp..

### 3.1.4. Tratamento

Devido ao aumento de lotação nas atividades de bovinocultura e à necessidade de diminuição dos custos de produção, os medicamentos *coccideostáticos* vêm ganhando importância no tratamento das eimerioses bovinas (Sanyal *et al.*, 1985). Atualmente, as bases mais comumente usadas no tratamento da eimeriose bovina são: Amprólio clorídrico, sulfaquinaxalina, decoquinato e toltrazuril.

O amprólio hidrocloreto tem como mecanismo de ação a inibição por competição com a tiamina nos merontes de primeira geração, bloqueando a diferenciação das células germinativas em merozoítos. Pode também suprimir os estágios sexuais e inibir esporulação de oocistos. Sua base de ação é um análogo a Vitamina B1 ou tiamina (Plumb, 2005). A dose bovina, para *E. zuernii* e *E. bovis*, é 10 mg/kg e 5mg/kg para tratamento e profilaxia respectivamente.

Pertencente ao grupo das sulfonamidas, a sulfaquinaxalina é uma substância derivada do aminobenzenosulfonamida. O ácido p-aminoben-zóico (PABA) é uma substância necessária para a síntese de ácido fólico e sua forma reduzida, ácido tetrahydrofóico, é fundamental para a síntese de DNA e RNA. A sulfaquinaxalina é um análogo estrutural do PABA e atua como um antimetabólico, inibindo a formação do metabolito necessário para multiplicação do DNA e RNA. Agem sobre os micro-organismo que são incapazes de usar ácido fólico diretamente em seu metabolismo. A dosagem terapêutica é de 20mg/kg para bovinos, entretanto, esse medicamento é mais indicado para eimerioses brandas que não apresentem curso hemorrágico (Górniak, 1996), ou em casos em que se suspeite de infecções bacterianas adjacentes (Fox 1985).

O decoquinato (ethyl 6-decilo-7-ethoxilo+hydrox-nolina-3-carboxilato) é um medicamento coccidiostático que interfere no transporte de elétrons do sistema citocromo mitocondrial sobre o esporozoíto. Esse fármaco interfere no desenvolvimento do esporozoíto após a entrada na célula intestinal do hospedeiro (Plumb, 2005). O decoquinato é uma droga com alta margem de segurança, podendo ser administrado nas dosagens de 6,25 mg/kg por quatro

meses, 20 mg/kg, em dose única, ou 10 mg/kg PV durante cinco dias (Ferreira, 2002). A dosagem profilática com decoquinato é de 0,5 mg/kg PV por período mínimo de 28 dias. Aparentemente não existe possibilidade de seleção de espécies de *Eimeria* spp. resistentes ao decoquinato (Plumb, 2005).

Finalmente, o toltrazuril age sobre os merontes, microgametas e macrogametas de *Eimeria* spp., atuando sobre todos os estágios intracelulares do ciclo do coccídio, sem, entretanto, interferir no metabolismo do tecido intestinal do hospedeiro. Esse medicamento é a melhor opção para tratamento em casos de infecções mais severas e em fases mais avançadas da doença, uma vez que, ele atua sobre a mitocôndria dos coccídeos, interferindo em seu metabolismo respiratório (Mundt *et al.*, 2003). Além disso, Harder (1989) sugere que o fármaco atua de forma secundária inibindo a síntese de pirimidina. O trotazuril pode também ser utilizado como medida profilática, resultando em melhor desempenho produtivo em comparação a bezerros não tratados, mesmo depois da cura clínica (Epe *et al.*, 2005).

### 3.1.5. Controle

O controle sistemático das coccidioses evita perdas monetárias tanto pelos gastos adicionais com o tratamento quanto pelas quedas de produção animal que deixam de acontecer. As medidas adotadas para controle da eimeriose são relativamente simples, baratas, com resultados normalmente satisfatórios, principalmente em propriedades em que o problema é contínuo.

As infecções por *Eimeria* spp. são reduzidas a níveis mínimos em confinamentos bovinos com alta prevalência da doença, apenas mantendo a temperatura do galpão abaixo dos 15 °C, e controlando a umidade até um máximo de 80%. Isso se deve ao fato de que, em baixas temperaturas e umidade, a esporulação do oocisto é dificultada e conseqüentemente, sua ingestão não inicia seu ciclo reprodutivo (Gräfner *et al.*, 1985). Além disso, a limpeza regular do galpão impede a ingestão de oocistos, assim como a esporulação dos mesmos, sendo também, um mecanismo de controle eficaz (Gräfner *et al.*, 1985).

Medidas de quimio-profilaxia também possuem resultados satisfatórios. Contudo, para seu uso, devem-se usar as doses de cada medicamento para prevenção, e não para tratamento, com objetivo de evitar intoxicações acidentais (Conlogue *et al.*, 1984). Porém, para se evitar perdas econômicas, animais sabidamente expostos ao agente devem receber tratamento profilático, e então, tratamento terapêutico (Conlogue *et al.*, 1984; Gräfner *et al.*, 1985b; Mundt *et al.*, 2005). Outras medidas de controle incluem segregação de animais doentes, controle de vetores mecânicos, limpeza de equipamentos de manejo, desinfecção de estábulos, drenagem de pastagens e diminuição da lotação animal, uma vez que todas essas medidas diminuem a

probabilidade de contato com o oocisto esporulado pelo animal (Hiepe *et al.*, 1978; Joachim, 2002; Snoep e Potters, 2004).

### 3.1.5.1 Monensina

Medicamentos ionóforos com atividade coccideostática, também podem ser usados para o controle da *Eimeria* spp.. São geralmente usados através da adição do fármaco na dieta do animal, seja no sal mineral, ração ou volumoso oferecido em cocho. Sua ação é sabidamente eficaz e, tradicionalmente, é usada em campo por sua facilidade para administração e resultados positivos tanto em controle das coccidioses, como ganho de produção e performance animal, por atuar regulando a flora ruminal (Zanine *et al.*, 2006).

A monensina é um composto de peso molecular médio (Gonzales, 2001), que é produzida do fungo *streptomyces cynamonensis* (Haney e Hoehn, 1967). Pertencente ao grupo dos ionóforos carboxílicos, também conhecido como antibióticos poliéteres, a monensina sódica é o medicamento de ação anticoccídea mais utilizado no Brasil (Nogueira, 2009). Esse fármaco é um composto lipossolúvel que age formando canais ou poros através da membrana celular dos micro-organismos que facilitam a passagem de íons (Ferreira e Dell'porto, 1999). Tem grande capacidade de se ligar a íons monovalentes e bivalentes e dessa forma tornam-se transportadores dos mesmos.

A ação anticoccídea da monensina é devido a sua penetração através da membrana celular do merozoíto, carreando com ele íons  $\text{Na}^+$ , que é seguida pela entrada de água na célula, para equilibrar a pressão osmótica no parasita, com consequente ruptura de sua parede celular, ou simplesmente a parada do seu metabolismo (Diniz, 2009). Entretanto, a monensina age no início do ciclo parasitário, tendo sua ação como tratamento após infecção questionada (Diniz, 2007). Para o funcionamento adequado do fármaco, é preciso que haja monensina na luz intestinal no momento em que ocorre a liberação do merozoítos, por isso sua administração juntamente com a dieta do animal, visando o constante fluxo de monensina pelo intestino (Gonzales, 2001).

## 3.2. Homeostase

Define-se por homeostase a propriedade de um sistema aberto, especialmente dos seres vivos, de regular o seu ambiente interno, de modo a manter uma condição estável mediante múltiplos ajustes de equilíbrio dinâmico controlados por mecanismos de regulação inter-relacionados (Cannon, 1932). A manutenção da homeostase depende da regulação dos níveis de eletrólitos, pH sanguíneo e líquidos corporais (Cunnighan, 2004). Os líquidos corporais dos

animais domésticos são divididos em líquido intracelular (LIC) e líquido extracelular (LEC). O equilíbrio e a distribuição desses líquidos, assim como, sua composição e acidez, são imprescindíveis para a manutenção dos processos metabólicos do organismo e manutenção da vida (Kasari, 1999; Mendéz 2010).

Como a água é a substância mais abundante em organismos mamíferos, a importância da regulação dos líquidos corpóreos se torna evidente. Cerca de 60% do peso corporal de um animal adulto provém da água em seu corpo, enquanto em animais jovens esse percentual chega a 80%. Desse total, dois terços compõem o LIC, enquanto um terço faz parte do LEC (Meyer, *et al.*, 1995).

O LEC se divide entre líquidos intersticiais, de plasma sanguíneo e fluido transcelular (DiBartola, 2000; Kochevar, 2003). A pressão osmótica e o volume do LEC são determinados em grande parte pela concentração do  $\text{Na}^+$ , uma vez que água tende a fluir para dentro ou para fora dos compartimentos, em resposta às alterações deste íon (Meyer, *et al.*, 1995). Esse íon é o principal cátion presente no líquido extracelular, sendo que, os principais ânions são o  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$ . O LIC compreende todo o líquido encontrado no interior das células do corpo e seus íons prevalentes são o  $\text{K}^+$ , como cátion, e as proteínas intercelulares como ânions (Dibartola, 2000).

### 3.2.1. Sódio ( $\text{Na}^+$ )

O íon de maior abundância no líquido extracelular dos mamíferos é o sódio. Esse cátion é o principal responsável pela manutenção da osmolaridade plasmática, tendo também, papel importante no equilíbrio ácido-base do organismo, juntamente com  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . Sua concentração corporal é unicamente controlada por sua ingestão e excreção (DiBartola, 2000; Cunningham, 2004). Porém, o nível de sódio presente nos vegetais é muito baixo, sendo assim, a dieta dos herbívoros, entre eles incluem-se os ruminantes, apresenta concentrações de sódio inferiores aos requisitos mínimos desses animais. Dessa forma, a ingestão de  $\text{Na}^+$  deve ser suplementada na dieta dos herbívoros domésticos. As necessidades de  $\text{Na}^+$  variam conforme a temperatura ambiente, a capacidade produtiva e o nível de atividade do animal. Elevados níveis de  $\text{K}^+$  na dieta aumentam os requisitos de  $\text{Na}^+$  (Tasker, 1971; Cunningham, 2004).

Sódio e potássio transpõem a membrana celular através de canais iônicos, porém, a membrana plasmática é menos permeável a sódio que a potássio, sendo assim, a concentração de sódio nos líquidos corporais e o potencial de membranas previsto pelos organismos vivos se tornam significativamente diferentes (Skou, 1957). Por essa razão, o organismo animal se utiliza do mecanismo da bomba de sódio potássio ou  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  adenosinatrifosfatase, que por meio do uso de ATP retira o  $\text{Na}^+$  do meio intracelular e internaliza  $\text{K}^+$ , no sentido contrário ao gradiente de concentração entre o meio intracelular e extracelular, gerando assim potencial elétrico de



membrana (Carlson, 1997; Rose e Post, 2001). Esse potencial é de fundamental importância para várias funções celulares especializadas, como as contrações musculares, cardíacas e a transmissão de impulsos nervosos.

Alterações nos níveis fisiológicos de sódio são denominadas hiponatremia, quando os níveis plasmáticos do íon estão baixos, e hipernatremia, quando ocorre aumento na concentração de  $\text{Na}^+$ . A eimeriose, assim como qualquer afecção que leve a diarreia ou a perda contínua de sangue, é comumente associada a casos de hiponatremia. A eliminação de sódio pelas fezes, mesmo em um episódio diarreico, é isotônica ou hipotônica se comparados ao sódio sanguíneo. Todavia, durante a diarreia, há maior eliminação de sódio pelas fezes, apesar da concentração não variar significativamente, e a reposição dos líquidos perdidos é normalmente realizada através da ingestão de água, e não de líquidos eletrolíticos. Sendo assim, há um desbalanço entre a ingestão de  $\text{Na}^+$  e sua eliminação, culminando em hiponatremia (Angelos e Van Mestre, 1999; Berchetold, 1999). Além disso, hiponatremia pode ser causada por insuficiência adrenal. Já a hipernatremia é observada em casos de insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência hepática e síndrome nefrótica (Carlson, 1997; DiBartola, 2000).

Sendo o sódio o principal responsável pelo controle osmótico, os sintomas apresentados por animais com hipo ou hipernatremia se devem ao fato de que, com os níveis séricos de  $\text{Na}^+$  fora dos padrões fisiológicos, o gradiente de osmolaridade se altera, levando a alterações de LIC e LEC, e conseqüentemente ao mal funcionamento de todo o organismo. As alterações apresentadas por animais hiponatremicos incluem incordenação, alterações neurológicas, fraqueza muscular, apatia e dor abdominal. Já a hipernatremia leva a polidipsia, diminuição do volume e frequência urinária, fraqueza muscular, letargia e edemas generalizados (Tietz, *et al.*, 1996; Meyer *et al.*, 1995; DiBartola, 2000).

O  $\text{Na}^+$  é excretado pelo suor, fezes e, principalmente, pela urina. Cerca de 90% do  $\text{Na}^+$  que passa pelos glomérulos é reabsorvido nos túbulos proximais e nas alças de Henle, dependendo da sua concentração no organismo. A aldosterona e o hormônio anti-diurético (ADH) são os principais hormônios controladores das concentrações de  $\text{Na}^+$ , mantendo equilibrada a relação entre  $\text{Na}^+:\text{K}^+$ . Em caso de hipernatremia, a secreção de aldosterona é reduzida, diminuindo a reabsorção de  $\text{Na}^+$ . Nos casos de hiponatremia, ocorre aumento da secreção, promovendo maior reabsorção renal. O ADH é responsável pelas mudanças na pressão osmótica do LEC. Em casos de hiponatremia, ocorre inibição da sua secreção, aumento da eliminação de água pela urina e conseqüente aumento níveis plasmáticos de sódio (Tietz, *et al.*, 1996; Meyer *et al.*, 1995; DiBartola, 2000). Os níveis séricos normais de  $\text{Na}^+$  para os bovinos variam entre 132 e 152 mmol/L (Meyer *et al.*, 1995).

### 3.2.2. Potássio (K<sup>+</sup>)

O íon de maior abundância no líquido intracelular dos mamíferos é o potássio. A exemplo do sódio no LEC, o potássio é o principal responsável pela manutenção da pressão osmótica no LIC (Carlson, 1997). Cerca de 98% do K<sup>+</sup> total do corpo encontra-se no LIC. Essa abundância faz com que a quantidade desse íon em organismos vegetais e animais sejam altas. Sendo assim, mesmo as dietas dos herbívoros domésticos atingem facilmente os requisitos diários, e, dessa forma, o organismo animal precisa eliminar potássio diariamente para evitar intoxicação (Tasker, 1971). A eliminação ocorre, principalmente, através da urina, porém, suor, fezes e secreções gastrintestinais também contribuem para excreção desse íon (Carlson, 1997).

Normalmente, há pouca necessidade de retenção de K<sup>+</sup> no organismo e os rins atuam principalmente para evitar o acúmulo deste íon em quantidades tóxicas. Em casos de interrupção da ingestão, a reabsorção renal de K<sup>+</sup> se faz necessária. Entretanto, os rins têm baixa capacidade de retenção de K<sup>+</sup> (Cunningham, 2004; Meyer *et al.*, 1995; DiBartola, 2000). O equilíbrio da concentração de K<sup>+</sup> envolve a regulação extracorpórea, que está relacionada com o consumo dietético e as perdas orgânicas diárias, e a regulação interna, que está relacionada com o equilíbrio ácido-base, glicemia, insulinemia, exercício e a liberação de catecolaminas (Carlson, 1997).

O potássio acumula diversas funções no organismo, pois sua concentração no LEC, e sua importância na bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, está diretamente relacionada com o desenvolvimento dos potenciais de membrana. Portanto, transmissões nervosas, contrações musculares e o funcionamento adequado dos órgãos internos dependem desse cátion. Além disso, o K<sup>+</sup> participa de atividades enzimáticas que influenciam no metabolismo de carboidratos e transporte de elétrons (Tietz, *et al.*, 1996; Meyer *et al.*, 1995; DiBartola, 2000). Os distúrbios na concentração de potássio acarretam mudanças no potencial elétrico da membrana celular e geram distúrbios na contração miocárdica e neuromuscular por alterarem a relação entre o K<sup>+</sup> intra e extracelular e seu gradiente transmembrana (Cunningham, 2004).

As afecções gastrintestinais, como vômitos e diarreias, contribuem para a redução dos estoques calêmicos corpóreos, embora haja uma hipercalemia relativa. Este fato ocorre em decorrência da alteração do balanço interno do K<sup>+</sup>, a partir da redistribuição deste nos meios intra e extracelular. Como tentativa do organismo de manter o pH sanguíneo na faixa fisiológica há excreção celular de potássio para o LEC e internalização de H<sup>+</sup>, aumentando assim os níveis séricos de potássio mesmo que com sua diminuição no LIC (Carlson, 1997; Rose e Post, 2001). Os níveis séricos normais de K<sup>+</sup> para os bovinos variam entre 3,8 a 6,0 mmol/L (Meyer *et al.*, 1995).

### 3.3. Equilíbrio Ácido-Base

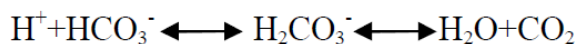
O organismo animal se mantém em constante metabolismo, o que gera subprodutos indesejáveis que, se acumulados, podem levar ao mau funcionamento dos processos metabólicos. São gerados entre 50 e 100 mmols de  $H^+$  por dia pelo metabolismo de fosfolipídeos, e cerca de 10000 mmol de  $CO_2$  são gerados pela oxidação de carboidratos e lipídeos (DiBartola, 2000; Drage e Wilkinson, 2001). Essas substâncias possuem capacidade de baixar o pH sanguíneo se acumuladas, portanto, o organismo deve excretá-las. Para tanto, ocorre metabolismo desses metabólitos, transformando-os em ácido carbônico ( $H_2CO_3$ ) para posterior eliminação pelo organismo (Gomes, 1997; Cunningham, 2004).

O pH normal do sangue varia entre 7,31 a 7,41 e sua manutenção é essencial para pleno funcionamento dos processos metabólicos e celulares, pois enzimas intracelulares influenciam as reações bioquímicas que ocorrem no metabolismo normal. Essas enzimas possuem uma maior eficiência quando em faixa normal de pH, assim, a capacidade de regulação do pH corporal pelo organismo é determinante para a continuidade da vida. Além disso, a homeostase está intimamente relacionada com o equilíbrio ácido-base, portanto alterações significativas no pH podem acarretar desequilíbrio hidroeletrólítico e levar aos distúrbios causados por ele (Cunningham, 2004; Meyer *et al.*, 1995; DiBartola, 2000).

O equilíbrio acidobásico envolve o balanço de  $CO_2$ , ácidos diferentes dos carbônicos e bases, e o organismo apresenta três sistemas para sua manutenção. São eles: os tampões intra e extracelulares, pulmões e rins. Entre os tampões, encontram-se a hemoglobina e proteínas, com participação intracelular, carbonatos provenientes dos ossos, fosfatos e bicarbonato como tampões no meio extracelular (Cunningham, 2004). Esses tampões agem principalmente para titular o  $H^+$  livre, mantendo pH dentro dos limites fisiológicos, e rapidamente, contendo variações agudas de acidez, desde que suas capacidades de tamponamento não sejam excedidas por concentrações muito elevadas de  $H^+$  (Cunningham, 2004; Bangoura e Dauschies, 2007b).

A troca catiônica realizada pelas células é outro recurso do organismo que pode auxiliar o tamponamento dos meios intra e extracelular. Este processo é realizado pela membrana celular, constituindo-se no movimento de íons  $H^+$  através da membrana na troca por  $K^+$  e  $Na^+$  (Rose e Post, 2001). Valores de pH fora da faixa de normalidade indicam acidose ou alcalose. Entretanto, valores de pH aparentemente normais não descartam a possibilidade de alterações no equilíbrio ácido-básico (Carlson, 1997).

Dentre os sistemas tampões, recebe destaque o tampão bicarbonato, que atua realizando reação entre íons hidrogênio ( $H^+$ ) e bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), formando ácido carbônico ( $H_2CO_3$ ), e posteriormente, gás carbônico ( $CO_2$ ) e água ( $H_2O$ ) (Tietz *et al.*, 1996).



Esse sistema é o mais eficiente do plasma, pois, há grande concentração plasmática de  $\text{HCO}_3^-$ , se comparado com outros tampões, além da facilidade da eliminação de  $\text{CO}_2$  pelos pulmões e retenção de bicarbonato pelos rins (Cunningham, 2004; Bangoura e Dauschies, 2007a). Dentre os tampões intracelulares, a hemoglobina e os fosfatos são os mais eficientes (Tietz *et al.*, 1996; Di Bartola, 2000).

A segunda linha de defesa do organismo à queda do pH sanguíneo são os pulmões. Esses órgãos agem, principalmente, em resposta a alterações rápidas do pH sanguíneo, aumentando a frequência respiratória e, conseqüentemente, incrementando a taxa de eliminação de  $\text{CO}_2$  do sangue, reduzindo, assim, a concentração de ácido carbônico sanguíneo (Cunningham, 2004). Já os rins compõem a terceira defesa, sendo responsáveis pela eliminação de íons hidrogênio pela urina e retenção de íons bicarbonato (Meyer *et al.*; 1995). Além disso, os rins são os únicos órgãos capazes de recolocar o pH sanguíneo em sua faixa de normalidade, em casos de acidose ou alcalose, pois somente esses órgãos são capazes de eliminar bases e ácidos de origem não respiratória (Rose e Post, 2001).

### 3.3.1. Pressão parcial de Dióxido de Carbono ( $\text{pCO}_2$ )

O  $\text{pCO}_2$  corresponde a pressão ou tensão exercida pelo  $\text{CO}_2$  diluído no plasma sanguíneo, sendo assim, reflete a dinâmica entre a produção de  $\text{CO}_2$  pelo metabolismo e sua eliminação pelo sistema respiratório. O gás carbônico é a substância acidificante do equilíbrio ácido-base que possui origem no metabolismo respiratório, e sua avaliação, juntamente com a do pH sanguíneo retrata a eficácia desse equilíbrio (Tietz, *et al.*, 1996; Meyer *et al.*, 1995.)

Os valores fisiológicos da  $\text{pCO}_2$  para os bovinos variam de 34,7 a 44 mmHg (Carlson, 1997; Gomes, 1997). O aumento da  $\text{pCO}_2$  é chamado de acidose respiratória primária e ocorre principalmente em casos de obstrução das vias aéreas, anestésias prolongadas ou em patologias que agridem o sistema respiratório. A diminuição da  $\text{pCO}_2$  abaixo dos níveis fisiológicos chama-se alcalose respiratória, e está associada a hiperventilação e distúrbios que atacam o sistema nervoso (Tietz, *et al.*, 1996; Meyer *et al.*, 1995; DiBartola, 2000).

### 3.3.2. Íons Bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ )

O alcalinizante mais importante do sistema ácido-básico é o bicarbonato, sendo sua concentração diretamente relacionada com a capacidade de tamponamento do organismo. Esses íons são, principalmente, de origem endógena, sendo produzidos a partir da hidratação do  $\text{CO}_2$  a

$\text{H}_2\text{CO}_3$ , e posterior formação de  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{H}^+$  pela dissociação do ácido carbônico. Sua eliminação acontece pelas secreções do sistema gastrointestinal e pelos rins (Cunningham, 2004; Tietz *et al.*, 1996; DiBartola, 2000). O bicarbonato pode ser mensurado como padrão e sérico. O  $\text{HCO}_3^-$  padrão se refere aos valores plasmáticos, sem levar em consideração as influências respiratórias, ou seja, este valor é calculado considerando que a  $\text{PCO}_2$  é de 40 mmHg. Já o bicarbonato sérico é aquele medido diretamente no sangue (Bookallil, 2008).

O valor fisiológico de  $\text{HCO}_3^-$  plasmático é de 27 mmol/L nos bovinos (Meyer *et al.*, 1995). A redução de  $\text{HCO}_3^-$ , levando a uma acidose metabólica, é causada principalmente pelas diarreias, cetose e a acidose láctica. Já o aumento das concentrações de bicarbonato denomina-se alcalose metabólica primária, e é observado em casos de vômitos e deslocamento de abomaso nos bovinos (Dirksen *et al.*, 1993; Meyer *et al.*, 1995; Carlson, 1997; Cunningham, 2004).

### 3.3.3. Dióxido de Carbono total (tCO<sub>2</sub>)

O tCO<sub>2</sub> representa a soma das concentrações de bicarbonato, que representa a maior parte do CO<sub>2</sub>, e todo o CO<sub>2</sub> dissolvido no plasma, sendo uma estimativa grosseira da situação do equilíbrio ácido-básico. Seus valores fisiológicos se encontram entre 25,6 e 33,4 mmHg em bovinos (Tasker, 1971). Valores inferiores são indicativos de acidose e superiores indicam alcalose, entretanto, por ser intimamente relacionado com fatores metabólicos e respiratórios seus resultados devem ser cautelosamente interpretados (Meyer *et al.*, 1995; Carlson, 1997).

### 3.3.4. Excesso de Bases (BE)

Excesso de bases é definido como a quantidade de ácido, em mEq/L, necessário para restabelecer o pH de um litro de sangue, à 37°C e  $\text{PCO}_2$  de 40 mmHg, ao valor de 7,4 (Bookallil, 2008), ou como a diferença entre o total de bases tituláveis e ácidos tituláveis (Carlson, 1997). Excesso de base, desvio de base ou diferença de base atua como parâmetro secundário para avaliação de desequilíbrios metabólicos, além de fornecer informação sobre o estado do equilíbrio ácido base (Gomes, 1997). Os valores negativos indicam uma deficiência de bases, caracterizando um quadro de acidose clínica devido à redução de  $\text{HCO}_3^-$ , e, nos casos de valores positivos sugerem alcalose metabólica (Carlson, 1997). A vantagem da utilização desse parâmetro é que esse valor permanece praticamente constante mesmo durante alterações agudas da  $\text{PCO}_2$ , refletindo apenas alterações metabólicas, sofrendo pouca ou nenhuma interferência das alterações respiratórias (Meyer *et al.*, 1995; Tietz *et al.*, 1996).

### 3.4. Parâmetros Hematológicos

A análise de hemograma é uma ferramenta importante não só para detecção de doenças do sistema hematológico, como também, subsidia diagnósticos de muitos órgãos e sistemas. Embora o diagnóstico de uma doença dificilmente possa ser baseado somente no hemograma, esse exame pode contribuir para formação de um prognóstico, além de permitir o acompanhamento da evolução da doença (Rolland *et al.*, 2014).

Os eritrócitos são as células mais numerosas do sangue e são responsáveis pelo transporte de gases pelo mesmo. Sua produção é regulada pelo hormônio secretado pelos rins denominado eritropoietina, embora também, seja influenciada por outros hormônios, como os andrógenos, os hormônios tireoidianos e os glicocorticoides. Também chamados de hemácias ou glóbulos vermelhos, possuem produção limitada pelo aporte de proteínas, ferro, vitamina principalmente B12 e ácido fólico. Caso sejam sanadas as exigências, a medula óssea é capaz de acelerar a produção dessas células em até oito vezes em 48 horas sob estímulo da eritropoietina, que é liberada principalmente sob efeito de hipóxia renal (Jain, 1986; Meyer *et al.*, 1995).

O processo de formação dos eritrócitos denomina-se eritropoiese. A eritropoiese ocorre principalmente na medula óssea e, em menor escala, no baço e no fígado. Especificamente, ocorre a partir dos prorrubricitos, que são grandes células com nucléolos e citoplasma discretamente disformes, que possuem um núcleo altamente ativo e citoplasma repleto de mitocôndrias e ribossomos. Além disso, o complexo de Golgi e o retículo endoplasmático liso e rugoso apresentam sinais de intensa atividade (Dabak *et al.*, 2007).

Os prorrubricitos dão origem aos rubricitos basofílicos e estes originam os rubricitos normocrômicos. Os rubricitos normocrômicos são as últimas células da linhagem eritróide que realizam mitose, formando os metarrubricitos, que, após um período de maturação, saem da matriz óssea para os capilares da medula óssea por um processo de diapedese, perdendo seus núcleos e originando os reticulócitos (Grotto, 2008). Com a perda do núcleo, as atividades metabólicas diminuem e as organelas desaparecem gradualmente. Em cerca de 48 horas, o período de maturação dos reticulócitos está terminado e os novos eritrócitos são lançados na circulação (Williams *et al.*, 1972; Meyer *et al.*, 1995).

Assim que se transforma em eritrócito, o tempo de vida da célula é aproximadamente de 130 dias em bovinos. Após este período, a hemácia será fagocitada no baço, pois perderá sua elasticidade e será reconhecida por proteínas expressas em sua membrana e retirada de circulação. A hemoglobina será metabolizada liberando o ferro, que é estocado temporariamente, na forma de um composto denominado ferritina, para ser reutilizado posteriormente. A globina vai para um reservatório de aminoácidos e a bilirrubina é excretada pelo fígado (Williams *et al.*, 1972; Meyer *et al.*, 1995).

Os parâmetros avaliados para se determinar as alterações hematológicas e a eritropoiese são: o hematócrito (Ht - %); a contagem do número de células por  $\mu\text{L}$  de sangue; a concentração e hemoglobina (Hb - g/dL); o volume celular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina celular média (CHCM). Outras informações podem ser fornecidas pela avaliação das alterações morfológicas e da contagem de leucócitos e reticulócitos em esfregaço sanguíneo (Meyer *et al.*, 1995; Thrall, 2004). A tabela 1 abaixo apresenta os parâmetros hematológicos para bezerros da raça holandesa de 30 dias de idade segundo Peixoto *et al.* (2002).

Tabela 1: Parâmetros hematológicos de bezerros da raça holandesa, de 1 a 30 dias de idade.

Parametro	Mínimo	Máximo
Hematócrito (%)	23,1	32,9
Hemoglobina (g/dL)	8,5	12,2
VCM (fL)	40	47,6
HCM (pg)	11	17
CHCM (%)	31	36,2
RDW (%)	16	20

Fonte: Modificada de Peixoto *et al.* (2002), Radostits *et al.* (2007) e Freitas (2009)

### 3.4.1. Hematócrito (Hct)

Hematócrito, ou Hct ou Ht, é a percentagem de volume ocupada pelos eritrócitos no volume total de sangue. O exame de hematócrito deve ser a escolha clínica principal para uma análise inicial do hemograma, pois geralmente, a concentração de hemácias e de hemoglobinas no sangue seguem paralelas ao valor do hematócrito, sendo assim, esse parâmetro é um indicador chave do grau de anemia ou de hidratação do paciente, secundariamente, refletindo a capacidade de transporte de gases do sangue (Bittencourt *et al.*, 2012). Normalmente, utiliza-se um capilar de microhematócrito para a realização desse exame, sendo o mesmo centrifugado a 10.000 rotações por minuto por cinco minutos.

Os valores normais de hematócrito variam entre 26 e 42% nos bovinos (Meyer *et al.*, 1995). Valores aumentados de hematócritos são observados principalmente em casos de desidratação, doenças pulmonares e doenças cardíacas. Já a redução desses valores é gerada por anemias, desnutrição, leucemias e hiper-hidratação (Jain, 1986; Thrall, 2004). Para melhor avaliação e interpretação do hematócrito, recomenda-se relacioná-lo com os valores de proteína plasmática (Meyer *et al.*, 1995).

### 3.4.2. Hemoglobina (Hgb)

Após o período de 130 dias em média em bovinos, a hemácia perde sua elasticidade e é reconhecida por proteínas expressas em sua membrana e retirada de circulação pelo sistema mononuclear fagocitário. Após a destruição das hemácias nas células do SMF a hemoglobina liberada é catabolizada em uma fração proteica (globina) e na fração heme. A globina se incorpora ao conjunto de proteínas plasmáticas e a fração heme é novamente catabolizada, até Fe<sup>+3</sup>, que é retido pelo organismo para ser reutilizado, e em uma porfirina (hemobilirrubina), que é liberada na corrente sanguínea. Ao atingir o fígado, a hemobilirrubina é conjugada formando a colebilirubina, que é excretada na bile e lançada no intestino, onde é convertida pela flora bacteriana em urobilinogênio. A maior parte do urobilinogênio é excretada nas fezes e uma pequena parte é reabsorvida e novamente excretada pelo fígado e pelos rins (Allbritton e Seger, 1962).

Normalmente, o valor da hemoglobina é equivalente a um terço do hematócrito (Jain, 1986; Thrall, 2004), sendo que em bovinos esses valores se encontram fisiologicamente entre 5 e 8,7 g/dL nos bovinos (Meyer *et al.*, 1995). Valores acima desse parâmetro podem indicar desidratação, doença pulmonar crônica, produção excessiva de eritrócitos pela medula óssea, lipemia, e hemólise, tanto *in vivo*, quanto *in vitro* (Allbritton e Seger, 1962; Meyer *et al.*, 1995; Bittencourt *et al.*, 2012).

### 3.4.3. Índices Hematimétricos

#### 3.4.3.1. Volume Corpuscular Médio (VCM)

O volume corpuscular médio ou VCM se refere ao tamanho médio das células eritróides na circulação sanguínea. Deve ser interpretado como normocítico, em casos de tamanho dentro dos parâmetros, microcítico, em casos de redução das hemácias e macrocítico, nos casos de aumento do volume dos glóbulos vermelhos. O VCM pode ser obtido eletronicamente por meio de contadores hematológicos eletrônicos, ou pela fórmula abaixo. (Bittencourt *et al.*, 2012; Paes *et al.*, 2009).

$$\text{VCM (fl)} = \text{VG (\%)} \times 10 / [\text{Hemácias}] (\text{cels} \times 10^6/\mu\text{L})$$

A macrocitose é observada quando o organismo libera à circulação células eritróides imaturas, ou hemácias produzidas com menor número de divisões celulares na eritropoiese, sendo essas maiores que as hemácias normais. Dessa forma, interpreta-se que o organismo animal está



respondendo a estímulos que o impelem a produzir e liberar hemácias em maior frequência (Paes *et al.*, 2009)

A microcitose está relacionada, normalmente, com a deficiência de ferro no organismo. Com a queda na concentração de ferro, as células precursoras dos eritrócitos realizam uma divisão extra, pois não há na hemácia formada concentração adequada de hemoglobina. A célula formada possui o mesmo grau de maturação da anterior e não maturação subsequente. Isso leva a formação de hemácias de corpo celular menor (Bittencourt *et al.*, 2012; Paes *et al.*, 2009).

Hemácias de tamanho normal, ou normocíticas, podem ser observadas mesmo em casos de anemia. A normocitose pode ocorrer no início da resposta medular a anemia, quando o estímulo ainda não é suficiente para a liberação de células imaturas, alterando o VCM. Além disso, pode-se observar normocitose em casos de anemia crônica, já que não há estimulação da medula, ou em casos que a medula não responde a estímulos (Rolland *et al.*, 2014; Paes *et al.*, 2009).

#### 3.4.3.2. Concentração de Hemoglobina Celular Média (CHCM)

A concentração de hemoglobina celular média ou CHCM é um parâmetro que representa numérica e eficientemente a quantidade de hemoglobina média por eritrócito num dado volume sanguíneo (Paes *et al.*, 2009). É o índice eritrocitário de maior acurácia pois não depende da contagem de hemácias para o seu cálculo, como demonstrado a seguir:

$$\text{CHCM (g/dL)} = [\text{Hb}] \text{ (g/dL)} \times 100 / \text{VG (\%)}$$

O CHCM de um animal é classificado como normocrômico, quando o CHCM se encontra dentro dos limites fisiológicos para a espécie, hipocrômico e hiperocrômico, quando o CHCM encontra-se abaixo e acima do limiar fisiológico, respectivamente.

A hipocromia, normalmente, está relacionada a resposta pela medula óssea a estímulos para aceleração da produção de eritrócitos. Assim sendo, eritrócitos imaturos são lançados na corrente sanguínea, porém, essas células não possuem concentração adequada de hemoglobina, levando a CHCM baixos. Além disso, em casos de anemia por deficiência de ferro, a concentração de hemoglobina também se encontra em hipoconcentração de hemoglobina por falta do mineral, também acarretando hipocromia (Rolland *et al.*, 2014; Bittencourt *et al.*, 2012; Paes *et al.*, 2009).

A hiperocromia é fisiologicamente impossível de ocorrer. Leituras hiperocrômicas sugerem hemólise, tanto *in vivo*, quanto *in vitro*. Além disso, podem ocorrer erros de leitura em casos de uso de aparelhos hematológicos eletrônicos (Paes *et al.*, 2009).

### 3.4.4. Leucograma

Os leucócitos são células de defesa do organismo que atuam nos processos inflamatórios e imunológicos. Neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos são as células leucocitárias do organismo animal. Os leucócitos se subdividem em dois grupos, granulócitos ou polimorfonucleares, e mononucleares ou agranulócitos. Os granulócitos possuem um citoplasma repleto de grânulos e núcleo segmentado em células maduras. Enquadram-se nesse subgrupo os neutrófilos, os basófilos e os eosinófilos. Já as células mononucleares possuem citoplasma livre de grânulos e núcleo não segmentado (Dirksen *et al.*, 1993). Esse grupo é constituído por linfócitos e monócitos. Os leucócitos, assim como os eutritrócitos, são produzidos principalmente na medula óssea. Nesse processo, chamado de leucopoiese, estão envolvidas as células tronco, células progenitoras e precursoras. Linfonodos, baço e timo também possuem células progenitoras de leucócitos, porém, somente de linfócitos T e B, e essas, são enviadas pela medula óssea (Thrall, 2004).

A contagem de leucócitos totais nos bovinos pode apresentar pouca variação, mesmo durante inflamações agudas. Por isso, é necessário realizar contagem diferencial para auxiliar na investigação de doenças inflamatórias. Os bovinos apresentam menor número de neutrófilos circulantes e pequena reserva medular de leucócitos. Os linfócitos e eosinófilos circulantes são mais numerosos do que nas outras espécies (Coles, 1986).

#### 3.4.4.1. Leucopoiese

Para melhor entendimento do leucograma, é necessário a compreensão que esse exame retrata um momento do equilíbrio da produção leucocitária pela medula (compartimento medular), distribuição dos leucócitos no sangue (compartimento vascular) e demanda tecidual por ação dessas células (compartimento tecidual). Os linfócitos que ainda se encontram na medula óssea constituem o compartimento medular, que por sua vez, no caso da leucopoiese granulocitária, pode ser subdividido em compartimento medular de proliferação, compartimento medular de maturação e compartimento medular de reserva (Paes *et al.*, 2009).

No compartimento medular de proliferação encontram-se os mieloblastos, promielócitos e mielócitos, que são células precursoras de leucócitos capazes de se dividir e manter a proliferação necessária para constante produção leucocitária. No compartimento medular de maturação, as células precursoras, nesse caso metamielócitos e bastonetes, não realizam divisão celular, somente maturação com objetivo de formação dos granulócitos maduros (Thrall, 2004). Após o fim da etapa de maturação, os granulócitos permanecem na medula óssea, no compartimento medular de reserva, para serem liberados quando houver demanda tecidual por

esse tipo de célula. Os bovinos possuem um compartimento de reserva menor que as outras espécies, sendo assim, em casos de aumento de demanda por granulócitos, há maior liberação de células imaturas na corrente sanguínea (Coles, 1986).

O compartimento vascular se subdivide em circulante e marginal. O compartimento circulante se refere as células leucocitárias que estão circulando pelo sangue. O compartimento marginal é constituído por células que ficam aderidas as paredes dos vasos sanguíneos aguardando estímulo para se liberarem e executarem suas funções de defesa específica. Já no compartimento tecidual os leucócitos executam sua função de defesa do organismo, perdendo sua capacidade circulatória (Dirksen *et al.*, 1993).

#### **3.4.4.2. Características Celulares**

Após as etapas de proliferação e maturação, os granulócitos maduros se dividem em neutrófilos, eosinófilos e basófilos. Os neutrófilos maduros são caracterizados por possuírem até quatro lóbulos nucleares, podendo por essa razão, serem denominados neutrófilos segmentados. Suas funções principais são a fagocitose e ação antimicrobiana, além de destruição de células anormais e regulação da granulopoiese. Já os eosinófilos, possuem grânulos acidofílicos no citoplasma, sendo corados facilmente pela eosina. Sua principal função é o combate as helmintoses. Os basófilos por sua vez, possuem grânulos basofílicos em seu citoplasma, se corando de azul sob ação dos corantes hematológicos. Sua principal função é a participação de liberação de histaminas em casos agudos ou retardados de hipersensibilidade (Paes *et al.*, 2009).

Os agranulócitos ou mononucleares são constituídos por monócitos e linfócitos. Os monócitos não possuem núcleo segmentado, e são células maiores que os granulócitos. Sua função primordial é a fagocitose e digestão de partículas e células mortas. Além disso, ao sofrer migração tecidual, essas células passam por transformação nuclear, formando os macrófagos. Por outro lado, os linfócitos são células geralmente redondas ou ovaladas, com citoplasma levemente basofílico e núcleo que ocupa entre sessenta a quase cem por cento da área citoplasmática. Essas células se subdividem nas categorias linfócitos T e B, sendo linfócitos T responsáveis pela liberação de interleucinas, que são substancias que mediam a imunidade humoral e celular, ativam células inflamatórias e estimulam a linfopoiese (Jain, 1986; Meyer *et al.*, 1995),

É importante a interpretação do leucograma em conjunto, interpretando a contagem celular de todos os leucócitos. Vale ressaltar que alterações leucocitárias podem ser causadas pela liberação de adrenalina, corticosteróides e citocinas. A adrenalina causa uma leucocitose fisiológica, pela elevação da pressão sanguínea e a ocorrência de contração esplênica, promovendo a liberação de leucócitos marginais para a corrente circulatória. A elevação da contagem de leucócitos é moderada, observando-se neutrofilia, linfocitose, eosinopenia e

contagens variáveis de monócitos (Jain, 1986; Meyer *et al.*, 1995). Fatores intrínsecos, como raça, idade, sexo e estado fisiológico, e fatores extrínsecos, como manejo e estação do ano, podem influenciar nos resultados do leucograma em bovinos, alterando as contagens total e diferencial de leucócitos (Thrall, 2004). A tabela 2 abaixo apresenta as contagens diferenciais das células leucóides de bezerros da raça holandesa com idade entre 1 a 30 dias, segundo Peixoto *et al.* (2002).

Tabela 2: Parâmetros fisiológicos de contagem diferencial de leucócitos de bezerros holandeses com idade entre 1 a 30 dias.

Tipo Celular	Mínimo	Máximo
Linfócitos(/ $\mu$ L)	3100	7734
Macrófagos(/ $\mu$ L)	280	800
Neutrófilos(/ $\mu$ L)	3700	7000
Eosinófilos(/ $\mu$ L)	0	350
Basófilos(/ $\mu$ L)	0	0

Fonte: Adaptado de Peixoto *et al.* (2002).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Local e período**

O experimento foi realizado no galpão da clínica de ruminantes da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. O período experimental foi do dia 18 de dezembro de 2013 ao dia 22 de fevereiro de 2014. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFMG), protocolo número 239/2019.

### **4.2. Animais**

Foram utilizados no experimento 14 bezerros machos, da raça holandês, de até 30 dias de idade, oriundos de uma fazenda de exploração intensiva, localizada em Inhaúma Minas Gerais a 85 Km de Belo Horizonte.

Os animais eram colostrados na própria fazenda por um funcionário da mesma, porém, o colostro era proveniente de vacas de propriedade da Escola de Veterinária. Esse colostro era coletado de vacas multíparas, colocado em garrafas plásticas de dois litros, congelados e então enviados à fazenda, onde permaneciam congelados. Ao nascer um animal macho, quatro litros desse colostro eram descongelados em banho-maria, e então, administrados aos bezerros por meio de mamadeira. Os umbigos eram curados com iodo a 10% no dia do nascimento e os animais eram segregados em uma baia com piso de palha seca.

No seu segundo dia de vida os animais eram transferidos para a Escola de Veterinária da UFMG. Ao chegarem os animais eram separados em baias, amarrados por cordas anexadas em cabrestos e identificados por brincos perfurantes numéricos na orelha esquerda. Os animais foram separados em dois grupos, sendo o grupo 1 tratado diariamente com monensina, e o grupo 2 o grupo controle, no qual os bezerros não recebiam nenhum tipo de tratamento.

### **4.3. Ambiência**

Os animais eram separados fisicamente conforme o grupo experimental em que eram colocados. Todos os bezerros eram mantidos em sistema de Tie-stal, amarrados com corda curta e cabresto, com camas individuais forradas com tapete de borracha macia. Os cochos de alimento e os bebedouros automáticos eram individuais, sendo os animais, totalmente separados.

No galpão eram utilizados ventiladores para dispersar calor com objetivo de evitar stress térmico nos animais do experimento. Todas as janelas e portas eram teladas para evitar entrada de moscas diminuindo o estresse e a quantidade de vetores. Os animais foram alocados em uma fileira de cochos, sendo alocados primeiramente os do grupo 1 e em seguida os do grupo 2.

Diariamente, os animais eram retirados das camas, sendo as mesmas, completamente lavada com água em alta pressão e detergente, para eliminação de fezes e urina. Os canos metálicos, os bebedouros e os cochos eram também, totalmente higienizados, sendo esvaziados e lavados. A área em volta das camas passava pelo mesmo processo todos os dias.

#### **4.4. Manejo**

Os animais eram aleitados duas vezes por dia, as 09 horas e as 16 horas, recebendo em cada refeição, três Litros de raspa de leite em pó reconstituída, com 130g de matéria seca /litro, fornecido por mamadeira nos primeiros dias de vida, e depois sendo fornecida em baldes. Para sua homogeneização eram colocados 130 gramas do leite em pó em cada 870 ml de água a 38°C. Além disso era fornecida ração farelada e feno, inicialmente a vontade para os animais, que dispunham de bebedouro automático, sendo a oferta da água, também, não limitada.

Semanalmente os animais eram pesados em uma balança analógica de contrapeso móvel, sendo seu peso registrado.

#### **4.5. Origem do inóculo**

O inóculo utilizado nesse experimento foi obtido a partir de um caso de eimeriose atendido na Clínica de Ruminantes da UFMG. O animal em questão apresentou diarreia com acentuada presença de sangue, levando à suspeita da eimeriose. Suas fezes foram coletadas e, posteriormente, analisadas pelo exame de OoPG descrita por Gordon e Whitlock (1939) modificada por Ueno e Gonçalves (1998). A contagem foi realizada utilizando-se a câmara de McMaster e chegou-se ao diagnóstico de eimeriose.

A espécie foi identificada após esporulação dos oocistos em solução de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) a 2,5%, adicionada na solução de fezes na proporção de 1:1 e acondicionado em placas de Petri, permanecendo sob temperatura ambiente por sete dias.

O material esporulado foi então concentrado, de acordo com o protocolo descrito por Menezes e Lopes (1995), utilizando-se a solução de Sheather. Os oocistos foram identificados segundo Levine (1985).

Nesta amostra, foi identificado que 90% dos oocistos eram de *Eimeria zuernii*. Realizou-se então, coleta de um maior volume de fezes desse animal, as quais foram diluídas com igual volume de água, passadas por peneira fina para retirada de fibras e colocadas para esporular em bicromato de potássio 2,5%, em um frasco grande com aeração constante e temperatura ambiente.

Após sete dias verificou-se a esporulação de 95% dos oocistos e o inóculo foi transferido e mantido para geladeira (4°C).

#### **4.6. Inoculação**

No dia da inoculação, o inóculo era lavado para a retirada do bicromato de potássio. Para tal o inóculo foi centrifugado em alíquotas a 3000rpm por 10 minutos, o sobrenadante descartado e o sedimento ressuspensionado com água destilada. Este procedimento foi realizado três vezes, para a completa retirada do bicromato de potássio. Após essa etapa realizou-se o exame de OoPG do material obtido para quantificação dos oocistos presentes por grama de inóculo (Ueno e Gonçalves, 1998).

O material em questão apresentou 8.500 oocistos de *Eimeria* spp. por grama. Sendo assim, todos os animais foram inoculados, em seu terceiro dia de vida, por via oral com 20mL de inóculo, garantindo, infecção por 175.000 oocistos, sendo 95% de *Eimeria zuernii*. Uma semana depois, com intuito de reforçar a infecção, aos mesmos animais foi administrado 51.000 oocistos esporulados infectantes em 6 mL de inóculo (Cornelissen *et al.*, 1995; Staschen *et al.*, 2003).

#### **4.7. Administração de monensina**

Os animais foram divididos em dois grupos: grupo tratado (n=6) e grupo não tratado/controle (n=8). O grupo 1 foi tratado diariamente com monensina, na dose de 0,5mg/kg de peso vivo, a partir do dia da inoculação, e o grupo 2 permaneceu como controle, no qual os bezerros não recebiam nenhum tipo de tratamento.

Semanalmente os animais foram pesados com a balança de contrapeso móvel para bezerros. Após a pesagem, calculava-se a quantidade de monensina que cada bezerro receberia naquela semana. Desta forma, a dose de monensina individual era calculada e modificada a cada 7 dias, com o intuito de garantir a dose diária de 0,5mg/kg de peso vivo. O produto utilizado continha 20% de monensina sódica. Este era pesado em balança de precisão, e assim, a quantidade diária de monensina de cada animal era pesada e armazenada em um envelope de papel alumínio. No mesmo dia da pesagem eram preparados individualmente sete doses de monensina para cada animal, de acordo com o peso da semana.

O medicamento era então administrado misturando-se o mesmo ao leite dado na mamadeira para garantir o consumo do produto pelos animais. Caso algum animal estivesse sem apetite, sua dose diária de monensina era diluída em 100ml de água e administrada via sonda esofágica, garantindo a ingestão do fármaco.

## 4.8. Exame clínico

A partir da inoculação, os animais passavam diariamente por rotina de exame clínico que incluía a aferição de frequência cardíaca e respiratória do animal, temperatura retal, escore de fezes, escore de comportamento e escore de desidratação.

As frequências cardíacas e respiratórias eram aferidas por exame indireto, com auxílio de estetoscópio, e contados os movimentos respiratórios e cardíacos em um intervalo de um minuto. A temperatura retal era obtida com auxílio de termômetro digital.

Os escores analisados eram obtidos segundo observação do animal ou do material e posteriormente adequação em escala de 1 a 5 segundo o resultado encontrado. A tabela 3, abaixo, mostra os escores utilizados e seus requisitos (Constibal et al., 1998).

Tabela 3: Escore de fezes, comportamento e desidratação e parâmetros para enquadramento.

Pontuação	Escore		
	Fezes	Comportamento	Desidratação
1	Fezes de consistência normal	Animal ativo e atento	Olhos e mucosas brilhantes e turgor de pele normal.
2	Fezes pastosas	Animal atento, mas passa mais tempo deitado	focinho seco, mucosa oral menos lubrificada
3	Fezes liquefeitas	Animal apático, fraco, fica de pé com menor frequência	Endoftalmia discreta e redução do turgor de pele
4	Fezes com resquícios de sangue	Animal prostrado e se alimentando pouco	Endoftalmia evidente e redução acentuada do turgor de pele
5	Fezes totalmente sanguinolentas	Animal prostrado e irresponsivo a estímulos	Animal prostrado, mucosas secas e extremidades frias

## 4.9. Coleta e análises de amostras

### 4.9.1 OoPG

A partir do dia em que os animais foram inoculados, diariamente, recolheu-se fezes diretamente da ampola retal de todos os animais. Esse material era identificado e o exame de OoPG era realizado da seguinte maneira: Dois gramas de fezes eram adicionados a 28 ml de água e homogeneizados, e então passado por coadores para eliminação de detritos. 2 ml dessa solução eram então misturados com 2 mL de solução de Sheater e colocadas na câmara de Macmaster para contagem de oocistos (Ueno e Gonçalves, 1998).

Todos os dias, era realizado o exame clínico de todos os bezerros. A partir do primeiro dia em que algum animal apresentasse diarreia e ao mesmo tempo seu exame de OoPG fosse positivo para *Eimeria* spp, iniciava-se a etapa de coleta de sangue para hemograma e hemogasometria. Essas coletas foram efetuadas em dias alternados durante dez dias, tendo assim cinco momentos de coleta de amostra para cada animal (dias 1, 3, 5, 7 e 9).

### 4.9.2. Hemograma



Para a coleta destinada a hemograma utilizou-se tubo vacutainer com anticoagulante EDTA. O sangue foi coletado, após imobilização do animal, da veia jugular e então homogeneizado. Após essa etapa, realizou-se um esfregaço sanguíneo, com o mesmo material coletado, para contagem diferencial de leucócitos. O tubo com o sangue venoso era então levado ao laboratório de patologia clínica da Escola de Veterinária da UFMG para realização do exame de hemograma automatizado em uma máquina eletrônica. A contagem diferencial de leucócitos era realizada em microscópio ótico com aumento de 1000 vezes, em objetiva de imersão.

### 4.9.3 Hemogasometria

Para coleta destinada a hemogasometria, sangue venoso (2ml) era coletado da jugular por meio de seringa hipodérmica com agulha 25x7. Esse sangue era então depositado no cartucho i-STAT EC8+, que então era acoplado ao hemogastômetro i-STAT®Co. – Abbott Laboratories - EUA. Entretanto, segundo Freitas (2009) a informação divulgada pelo aparelho deve ser interpretada adaptando-se os valores de referência pelos mesmos não terem sido obtidos de bovinos que são criados em condições de manejo, clima e nutrição brasileiras. Além disso, a maioria dos autores não estabelecem valores destas variáveis específicas para bezerros de três a trinta dias de idade. A tabela 4 abaixo apresenta os valores de referência mais próximos a realidade do Brasil para bezerros de até 30 dias de idade.

Os resultados da hemogasometria e das concentrações de eletrólitos foram analisados comparativamente aos obtidos por Freitas (2009) em Minas Gerais, uma vez que este autor utilizou a mesma metodologia do presente experimento, em bezerros sadios de 3 a 30 dias de idade.

Tabela 4: Valores médios, erro esperado e intervalo de confiança das concentrações séricas eletrolíticas ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) gasométricas, pH, excesso de base (EB), janela aniônica, hematócrito, hemoglobina, de bezerros hígidos com idades variadas de três a trinta dias de idade. Fonte: Adaptado de Freitas 2009.

Parâmetros	Média	Erro esperado	Intervalo de confiança de 95%	
Na+ (mEq/L)	137	0,31	136,41	137,65
K+ (mEq/L)	4,47	0,06	4,36	4,58
HCO-3 (mEq/L)	30,08	0,26	29,55	30,60
TCO <sub>2</sub> (mEq/L)	31,46	0,27	30,9	32,02
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	47,17	0,53	46,09	48,25
pH sanguíneo	7,41	0,005	7,399	7,42
Excesso de base (mEq/L)	5,46	0,3	4,84	6,08
Janela aniônica (mEq/L)	12,37	0,28	11,79	12,94
Hematócrito %	27,83	0,83	26,13	29,52
Hemoglobina (mg/dL)	9,47	0,28	8,89	10,05

As coletas para análise hemogasométrica foram realizadas nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

#### 4.10. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, sendo dois grupos na parcela (grupo controle e grupo tratado) e cinco tempos nas subparcelas (dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos nas fezes) com seis repetições (bezerros) para o grupo tratado e oito repetições (bezerros) para o grupo controle.

O teste de Shapiro-Wilk, cuja hipótese de nulidade expressa que os dados em questão têm distribuição normal, foi utilizado para verificar a pressuposição de normalidade (Shapiro e Wilk, 1965).

Para análise das variáveis não paramétricas foi utilizado o teste de Friedman, entre as parcelas, ou o teste de Kruskal Wallis entre as subparcelas, a um nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05. As variáveis paramétricas tiveram suas médias comparadas por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Duncan a um nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05. Foi realizada também, a comparação de frequência de variáveis fora dos limiares fisiológicos para os diferentes momentos pelo teste exato de Fisher, a um nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico InfoStat/Profesional versão 2008.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Resultado do método de inoculação

Em toda a literatura consultada foi necessária a utilização de medicamentos anti-inflamatórios a base de corticoides para que bezerros apresentassem eimeriose clínica após a inoculação (Dauguschies e Najdrowski, 2005; Bangoura e Daugschies, 2007a; Bangoura e Daugschies 2007b; Enemark *et al.*, 2011, Mundt *et al.*, 2005b, Jonsson 2011). No presente trabalho não houve utilização de tais medicamentos e os animais inoculados reproduziram clinicamente a doença. Esse fato pode ser explicado pelo uso de *Eimeria zuernii*, que segundo Daugschies e Najdrowski, (2005), Mundt *et al.*, (2005a), possui grande potencial patogênico, se comparada a outras espécies de *Eimeria* que acometem bovinos. Pode-se também relacionar com a alta dose infectante e a segunda dose de inoculo administrada, fatores que facilitariam a manifestação da enfermidade (Bangoura e Daugschies 2007a). Além disso, pode-se divagar sobre

a alta patogenicidade do inoculo que pode também facilitar a manifestação clínica da eimeriose. Esse material foi obtido de um bezerro com diarreia severa, sendo que a doença levou o animal a óbito.

O período de incubação médio observado foi de 17 dias, variando entre 14 dias a 23 dias sendo que os animais apresentaram sintomas, em média, no 19º dia de vida. O método utilizado para estabelecer o período de incubação foi a primeira excreção de oocistos pelas fezes, observado por exame de OoPG. Esse resultado está de acordo com o descrito por Dauschies e Najdrowski (2005), Bangoura e Dauschies (2007a); Bangoura e Dauschies (2007b); Jonsson *et al.*, (2011), que descreveram o período de incubação de *E. zuernii* entre 14 a 21 dias. Esse período é influenciado pela dose infectante do inoculo, patogenicidade das cepas, grau de imunidade contra a doença, estresse, e doenças concomitantes. Todos os bezerros do grupo controle apresentaram eimeriose clínica caracterizada por aumento no fluxo de fezes, diarreia com presença de sangue e eliminação de grande quantidade de oocistos. A doença se estendeu por todo o período experimental (10 dias) e alguns animais, continuaram a eliminar oocistos após esse tempo, provavelmente pela dose de inóculo de reforço administrada. Esse resultado corrobora com o encontrado por Dauschies e Najdrowski, (2005), Mundt *et al.*, (2005); Bangoura e Dauschies, (2007a); Bangoura e Dauschies (2007b).

## **5.2. Resultados de OoPG e escore de fezes**

Todos os bezerros inoculados apresentaram eliminação de oocistos de *Eimeria*, que se iniciou entre 14 e 21 dias pós inoculação. Nos animais do grupo controle, a contagem média de OoPG, começou a aumentar no terceiro dia de eliminação, atingindo seu pico no sexto e sétimo dia, diminuindo em seguida no oitavo dia e atingindo valores iguais aos iniciais no nono e décimo dias. No grupo tratado com monensina a eliminação de oocistos foi constante durante o período de acompanhamento (primeiro-10º dia) e foi menos intensa do que a do grupo controle do terceiro ao oitavo dia. (Gráfico 1)

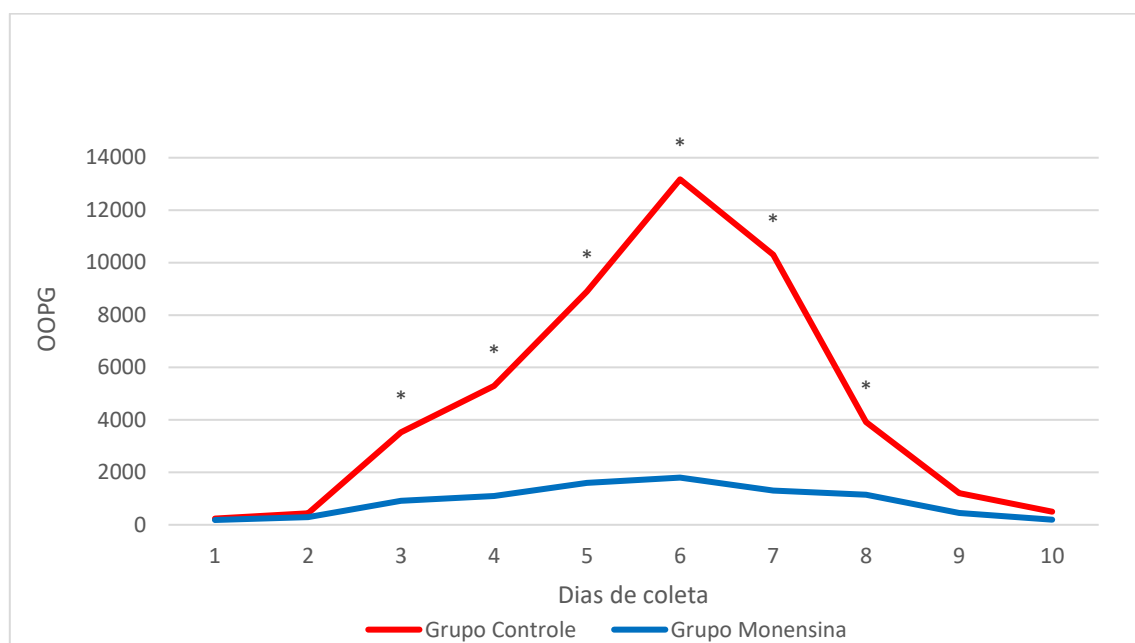


Gráfico 1: Dinâmica da eliminação de oocistos de *Eimeria zuernii* (OoPG) em bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida, tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, durante os primeiros dez dias de eliminação de oocistos nas fezes

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (Teste de Friedman  $p < 0,05$ )

O grupo controle apresentou eliminação maciça de oocistos durante o período experimental, atingindo contagens de até 120 mil oocistos durante o pico, e apresentando diarreia sanguinolenta severa. Sendo assim, o método de inoculação, assim como, a espécie e a cepa de *Eimeria* spp. utilizadas foram eficazes em promover casos de eimeriose clínica graves. O comportamento da curva de eliminação apresentada por esse grupo (Gráfico 1), assim como o alto número de oocistos excretados, corrobora com Dauschies *et al.*, (1986); Svensson *et al.*, (1996) e Dauschies (2005), que afirmam que, normalmente, os animais desenvolvem imunidade após a primeira infecção, e como esses animais eram neonatos e nunca tiveram contato com o agente, são esperados casos mais graves e contagens mais elevadas.

Ausência de variação de eliminação de oocistos no grupo tratado e a diferença entre os grupos, leva a inferência de que o tratamento com monensina foi eficaz em evitar um aumento expressivo de eliminação de oocistos, dentro do grupo, durante o período analisado. Além disso, na comparação entre grupos, levando-se em consideração os dias de coleta, observa-se que o medicamento foi o responsável pela diferença de contagem entre os grupos experimentais, evidenciando a eficácia da quimio-profilaxia adotada (tabela 5).

Tabela 5: Evolução da eliminação média de oocistos por grama de fezes de bezerros inoculados experimentalmente com *E. zuernii* durante os primeiros dez dias de eliminação

Dia de coleta <sup>1</sup>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Grupo											
OoPG	Controle	237 Aa	439 Aa	3525 Bcd	5300 Bd	8900 Bd	13175 Be	10300 Be	3912 Bc	1214 Aab	500 Aa
	Monensina	183 Aa	290 Aa	916,67 Aa	1100 Aa	1600Aa	1800 Aa	1300Aa	1150 Aa	450 Aa	200 Aa

\* Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas (teste de Friedman;  $p < 0,05$ ) e minúsculas nas linhas (teste de Kruskal Wallis;  $p < 0,05$ ) apresentam diferença estatística.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

Observa-se por meio do gráfico 1 que os dias de picos de eliminação de oocistos dos dois grupos coincidiram como sendo o sexto dia após o início do período patente, e, mesmo possuindo intensidades diferentes, as curvas analisadas são semelhantes em forma. Essa evidencia sugere que os animais dos dois grupos foram efetivamente infectados pelo parasita, porém, o grupo tratado foi capaz de amenizar a eliminação de oocistos pelas fezes.

O sucesso em manter baixa a contagem de oocistos por grama de fezes do grupo tratado pode ser creditada a monensina, pois, a mesma, agindo na luz intestinal reduz o número de merozoítos capazes de penetrar a célula hospedeira para se reproduzir (Diniz 2009; Diniz 2007). Tendo em vista que, as lesões e sintomas apresentados em casos de eimeriose por *E. zuernii* são creditados a fase reprodutiva, de formação e multiplicação de merozoítos (Dauguschies *et al.*, 1986), o número menor de células infectadas leva a uma liberação menor de oocistos, acarretando uma menor contagem ao exame de OoPG. Comparando-se os gráficos 1 e 2 observa-se que, a ação do medicamento não só reduz a quantidade de oocistos eliminados, como também a duração do período de eliminação, além de, melhorar o escore das fezes eliminadas pelos animais acometidos.

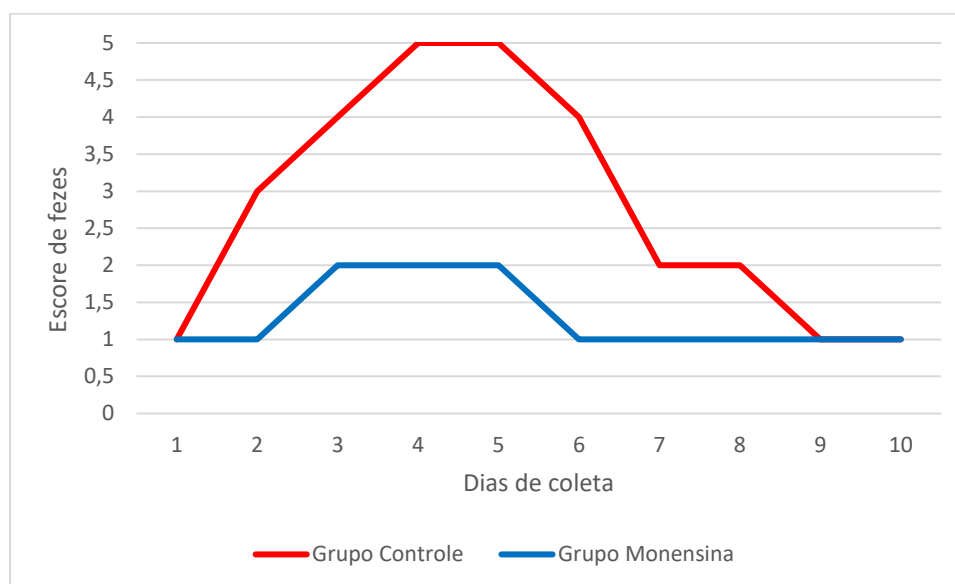


Gráfico 2: Evolução do Escore de fezes de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *E. zuernii*, tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, durante os primeiros dez dias de eliminação de oocistos nas fezes. (1: Fezes normais, 2: fezes pastosas, 3: fezes liquefeitas, 4: fezes com traços de sangue, 5: fezes com predominância de sangue)

A curva apresentada pelo gráfico 1 vai de acordo com o encontrado por Bangoura e Dauschies (2007b), que observaram que a eliminação de oocistos pelas fezes começa baixa, sofre um ligeiro aumento do segundo ao terceiro dia, atinge seu ápice do quarto ao sexto dia, e declina consideravelmente até o décimo dia. Com a queda na contagem ao OoPG, o animal não apresenta mais sintomas clínicos, pela queda na taxa reprodutiva do microrganismo, porém, pequenas eliminações de oocistos podem ser observadas periodicamente. Alguns animais, mesmo após o período experimental continuaram a apresentar excreção oocistos, provavelmente devido a dose inoculante de reforço administrada, pois, segundo Bangoura e Dauschies (2007b), Dauschies e Najdrowski (2005), Blake, (2006), que definem a eimeriose clínica como uma doença auto limitante cujo período de eliminação de oocistos dura de 8 a 12 dias.

O comportamento do escore de fezes durante os dias do experimento se mostrou semelhante ao do OoPG (gráfico 2). O escore de fezes do grupo tratado se manteve baixo, enquanto no grupo controle, alcançaram 4 e 5 entre os dias 3 a 6 de diarreia, sendo que todos os bezerros desse grupo apresentaram diarreia sanguinolenta nesse período. Tendo em vista que a diarreia de sangue apresentada por animais infectados é creditada a fase reprodutiva, de formação e multiplicação de merozoítos, e a sua posterior saída das células hospedeiras, causando rompimento celular (Dauschies *et al.*, 1986), é possível supor que a monensina sódica diminui

a população do parasito capaz de penetrar a célula hospedeira, e, conseqüentemente a taxa de rompimento celular causada pelo parasito (Diniz, 2004; Diniz, 2009).

Observando-se que os picos de eliminação de oocistos e de escore de fezes foram observados na mesma época supõe-se que um menor número de células intestinais é destruída para liberação dos oocistos nos animais tratados, levando a uma menor taxa de rompimento de vasos que permeiam a mucosa intestinal e também diminuindo lesões teciduais no órgão, impedindo ou diminuindo assim, a manifestação da diarreia sanguinolenta (Dauguschies e Najdrowski 2005; Bastianetto 2010).

### 5.3. Exames clínicos

O grupo controle apresentou aumento de temperatura entre os dias avaliados, alcançando temperatura mais alta no 5° dia. A frequência de animais com temperatura retal superior aos valores fisiológicos variou entre os grupos, nos 3°, 5 e 7° dias de coleta, sendo que, o grupo controle, apresentou maior frequência dessa ocorrência. Entre os grupos experimentais, a média da temperatura retal não variou durante os dias de coleta. Assim como, não foi observada diferença no grupo tratado com monensina durante dos momentos analisados (Tabela 6).

Tabela 6: Comportamento da temperatura retal de bezerros, inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria. zuernii*, tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

	Dia de coleta <sup>1</sup>	1		3		5		7		9	
		F		F		F		F		F	
Grupo											
Temperatura (°C)	Controle	39,79 Aa	0\8 A	40,49 Abc	4\8 A	41,04 Ad	6\8 A	40,85 Acd	6\8 A	40,21 Aab	3\8 A
	Monensina	39,95 Aa	1\6 A	40,1 Aa	1\6 B	40,28 Aa	1\6 B	40,53 Aa	2\6 B	40,38Aa	2\6 A

\* Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, apresentam diferença estatística (teste de Duncan  $p < 0,05$ )

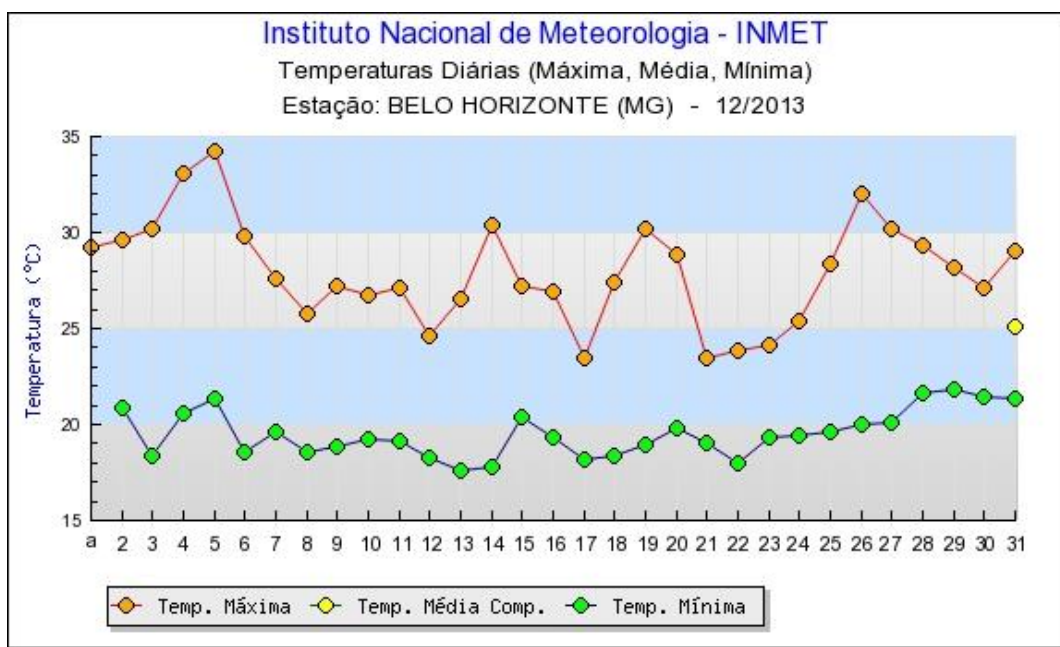
\*\* F= Frequência de bezerros com resultados fora dos parâmetros fisiológicos segundo DuPreez (2000).

\*\*\* Frequências seguidas de distintas letras maiúsculas diferem entre si. (Teste exato de Fisher  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

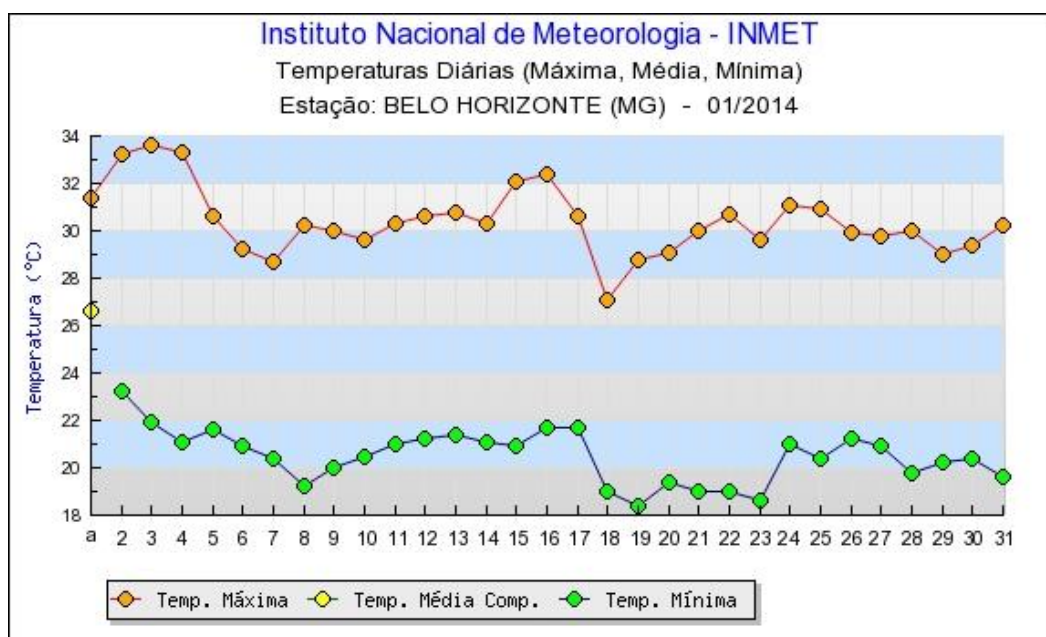
Os resultados dos exames de OoPG e de escore de fezes podem esclarecer o comportamento dos exames clínicos realizados durante o mesmo período, tendo em vista que, a perda de água, eletrólitos e tecido sanguíneo comumente levam a alterações nos parâmetros clínicos.

A ausência de variação entre as médias dos grupos experimentais podem ser justificadas pelas altas temperatura observadas no período (Figuras 1, 2 e 3) e pelo horário de medição, as 15 horas, horário quente do dia. A temperatura elevada pode ter aproximado as variações de temperatura corporal entre os dois grupos. Essas variações poderiam ser observadas caso o ambiente contasse com temperaturas mais amenas. Outra justificativa para o fato, seria a idade dos animais, que estavam ainda sobre efeito do colostro materno o que pode evitar variações drásticas de temperatura (Morales *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2013).



Fonte: Temperaturas... 2013.

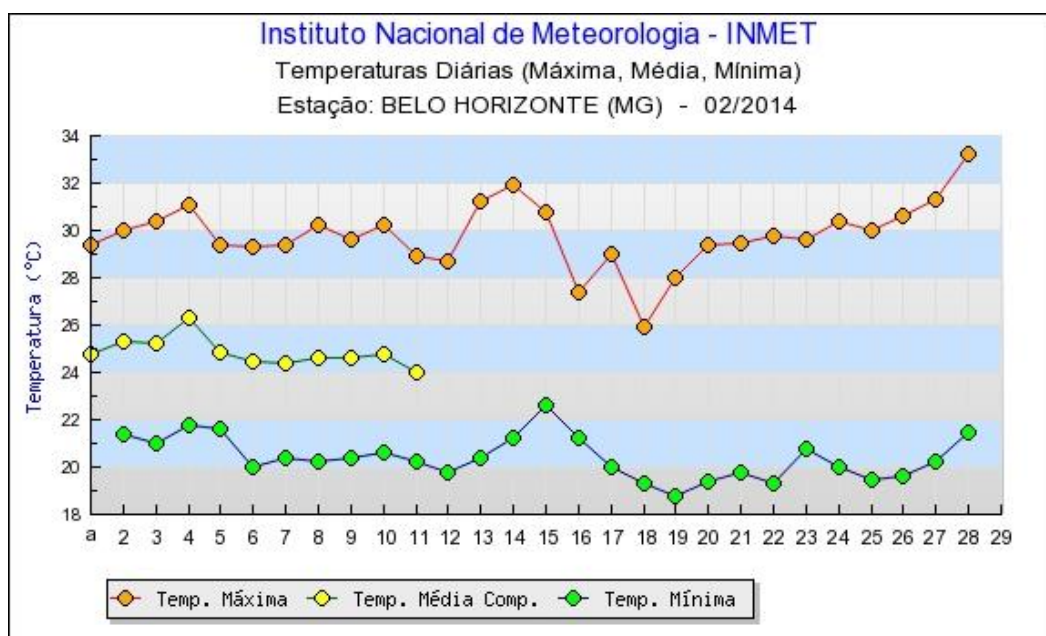
Figura 1: Temperaturas Diárias (máxima, média, mínima), estação Belo Horizonte (MG) – 12/2013



Fonte: Temperaturas... 2014a.

Figura 2: Temperaturas Diárias (máxima, média, mínima), estação Belo Horizonte (MG) – 01/2014





Fonte: Temperaturas... 2014b.

Figura 3: Temperaturas Diárias (máxima, média, mínima), estação Belo Horizonte (MG) – 02/2014.

O grupo controle apresentou variação da temperatura retal durante o período experimental, assim como, manteve a média das temperaturas acima do grupo tratado. Tendo em vista que, com a penetração da *Eimeria* pela mucosa intestinal há ativação dos mecanismos de defesa do organismo animal, principalmente células do sistema mononuclear fagocitário, é esperado que, com a maior carga infectante, ocorra maior migração dessas células e consequentemente, maior liberação de substâncias pirogênicas, que agem no hipotálamo e acarretam aumento da temperatura corporal de forma mais intensa (Lorenz *et al.*, 2011).

Tendo em vista a ausência de variação durante os momentos de coleta no grupo tratado, e a variação no grupo controle, infere-se que o tratamento com monensina sódica foi capaz de evitar aumento expressivo da temperatura retal dos animais tratados. Esse fato pode ser explicado pela menor carga parasitária, em bezerros tratados, que consegue atingir a mucosa dos intestinos grosso e delgado. Com essa menor carga uma menor resposta imunológica local é ativada e menos macrófagos são traídos ao local, liberando uma menor concentração de interleucinas, consequentemente também, de prostaglandinas levando a aumentos discretos na temperatura retal (Fiege *et al.*, 1992, Faber *et al.*, 2002, Lorenz *et al.*, 2011).

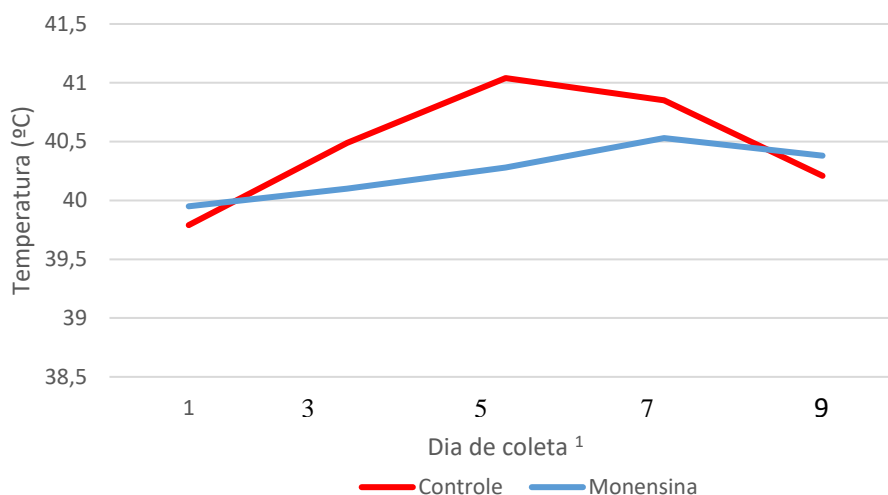


Gráfico 3: Evolução da temperatura retal de bezerros, inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

Através do gráfico 3 observa-se que a temperatura retal dos dois grupos experimentais, durante todo o período, manteve-se acima dos limites fisiológicos estabelecidos para bovinos neonatos. Esse comportamento, pode ser creditado a alta temperatura ambiente no período do experimento (Figuras, 1, 2 e 3), e também a resposta imunológica do organismo animal a inoculação, liberando interleucinas e aumentando a temperatura (Dirksen *et al.*, 1993; Woolums *et al.*, 2004).

A febre é um estado patológico de aumento na produção e de redução na perda de calor, sendo um processo curativo e defensivo importante. Geralmente, é acompanhada de retenção de líquidos, distúrbios digestivos e aumento nas frequências cardíaca e respiratória. Nos animais homeotérmicos, a constância da temperatura é mantida pelo funcionamento de centros regulatórios localizados na região do hipotálamo, que governam mecanismos periféricos relacionados com a perda e produção de calor. A febre é desencadeada por produtos derivados de microorganismos ou do próprio metabolismo do corpo, como as prostaglandinas, principalmente a PGE, que atuam diretamente nos centros hipotalâmicos de controle da temperatura (Dirksen *et al.*, 1993; Woolums *et al.*, 2004).

Os momentos de maior temperatura retal coincidem com o período em que os animais apresentaram maior eliminação de oocistos e também maior frequência e quantidade de sangue nas fezes, comparando-se aos gráficos 1 e 2. Esse fato corrobora com a afirmação de Bangoura e Dauschies (2007b), que sugeriram, que os picos de temperatura em casos de eimeriose clínica são concomitantes com a eliminação de oocistos nas fezes, pela fase reprodutiva do parasito estar também em seu ápice, resultando assim em uma maior resposta inflamatória. Segundo o mesmo

autor, esse fato se justifica pelo acúmulo de macrófagos no tecido intestinal e a liberação de interleucinas e prostaglandinas que levam a resposta febril.

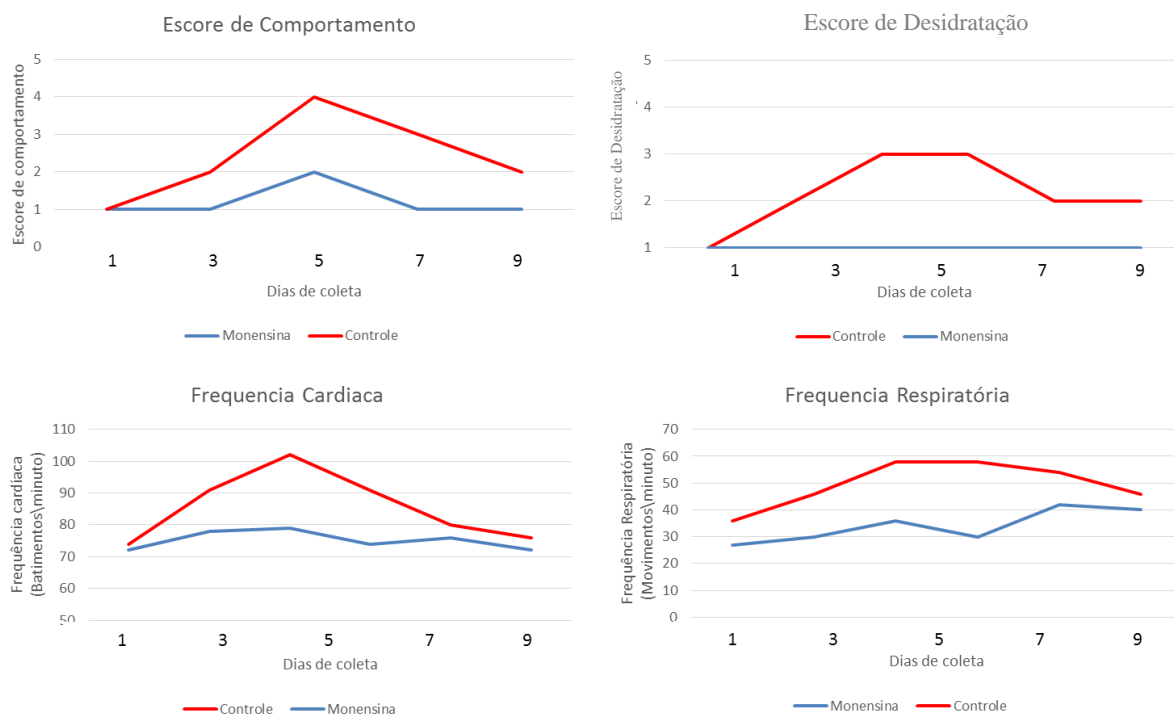


Gráfico 4: Evolução dos parâmetros clínicos, escore de comportamento, escore de desidratação, frequência cardíaca e frequência respiratória, de bezerros, inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados ou não com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

Observa-se pelo gráfico 4 que os parâmetros clínicos dos animais não tratados superaram substancialmente os dos bezerros que receberam monensina. O escore de desidratação dos bezerros tratados manteve-se 1 em todo o período analisado, enquanto que nos animais não tratados esse escore chegou a 3 nos 7º e 9º dias do período patente, ou seja os sinais de desidratação ficaram evidentes. Com relação ao escore de comportamento os animais do grupo tratado apresentaram uma pequena variação, até escore 2, no 5º dia de coleta, e os do grupo controle atingiram escore 4 nesse momento, e a curva apresentada foi superior por todo período.

As curvas de frequência respiratória e cardíaca apresentaram comportamento semelhante aos anteriores, mantendo-se sempre o grupo tratado com curva inferior ao controle. A frequência respiratória ultrapassou os valores fisiológicos (40 MR/m) no grupo controle a partir do dia 3, sendo que, esse parâmetro não voltou a normalidade até o final das coletas. A frequência cardíaca manteve-se em patamar mais elevado entre os dias 3 e 7 do mesmo grupo, ultrapassando os limites fisiológicos (90 BC/m) a partir do dia 3 (Gráfico 4).

Tendo em foco o escore de desidratação e comparando-se com o gráfico 1 e gráfico 2 observa-se congruência dos picos entre esses gráficos, demonstrando que, no momento de maior

eliminação de oocistos pelas fezes ocorreu maior gravidade da diarreia sendo seguida por um escore de desidratação maior. Então, quanto maior a eliminação de oocistos, espera-se um caso mais severo de diarreia com conseqüente desidratação do animal.

No período de maior desidratação, evidencia-se escore de comportamento mais elevado, indicando que a desidratação surtiu efeito no comportamento do animal levando-o a apatia e falta de energia. Segundo Cunningham, 2004, em graus elevados de desidratação ocorre depressão do sistema nervoso central e fraqueza muscular generalizada, explicando-se assim o escore encontrado. Além disso, pode-se inferir que animais que sofrem de perdas de líquidos continua, e não são reidratados com soluções eletrolíticas, podem sofrer com a queda nas concentrações dos íons responsáveis por funções básicas do organismo, como por exemplo contração muscular, fato que levaria o animal ao estado apático e a prostração. Também, há perda sistemática de sangue pelas fezes leva a menor aporte de oxigênio e nutrientes aos tecidos do organismo, o que também pode levar ao mesmo sintoma (Dabak *et al.*, 2007).

Na análise da frequência cardíaca (FC) durante a fase de patência, verificou-se aumento gradual a partir do momento 2. Correlacionando-se o aumento da FC com o gráfico 2, observa-se a relação do aumento de excreção de sangue pelas fezes e o aumento da FC. Esse fato se deve a menor volemia sanguínea e a tentativa do organismo de compensar essa queda aumentando a frequência cardíaca. O aumento da frequência cardíaca em casos de anemia é relatado por diversos autores (Wanduragala e Ristic, 1993; Radostits *et al.*, 2002; Blake, 2006; Dirksen *et al.*, 1993; Coelho, 2007.). Além disso, sobrepondo-se os gráficos de FC e Temperatura retal, é possível também, observar que ocorreu aumento nos mesmos momentos dos dois parâmetros, pois, o transtorno febril é normalmente acompanhado de aumento na frequência cardíaca (Dirksen *et al.*, 1993).

A frequência respiratória (FR) apresentou alteração mais significativa nos mesmos momentos dos outros dois parâmetros já analisados. A frequência respiratória tende a se elevar em casos de transtorno febril, assim, os picos de temperatura retal e frequência respiratória são congruentes.

Tendo em vista que a frequência respiratória se mostra mais elevada no mesmo momento que os animais apresentaram casos mais graves de diarreia, inclusive com eliminação de sangue na mesma, supõe-se que com a perda de sangue, o organismo aumente a frequência respiratória na tentativa de transportar maior quantidade de oxigênio, em compensação a uma menor volemia sanguínea. O aumento da frequência respiratória em resposta a anemia é relatado por diversos autores (Wanduragala e Ristic, 1993; Radostits *et al.*, 2002).

Em casos de diarreia grave seguida de desidratação, como o apresentado, deve-se também analisar a frequência respiratória como resposta do organismo a uma possível acidose metabólica, pois, juntamente com a perda continua de água pelas fezes ocorre perda de íons bicarbonato que

são os maiores responsáveis pela manutenção do pH sanguíneo (Freitas 2009; 2007). O sistema respiratório exerce grande influência no mecanismo de controle do pH, uma vez que o CO<sub>2</sub> produzido pelo metabolismo celular, é o responsável pela maior parte da carga ácida produzida durante os processos metabólicos (Drage e Wilkinson, 2001). Os pulmões respondem rapidamente, então, às alterações de pH, alterando a taxa de remoção de CO<sub>2</sub> do sangue e, conseqüentemente a taxa de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> elevando a frequência respiratória (Cunningham, 2004).

Desta forma, comparando todos os gráficos apresentados, pode-se inferir que o aumento na eliminação de oocistos por grama de fezes é acompanhado por aumento na temperatura retal e por um quadro de diarreia mais grave, levando inclusive, a grande quantidade de eliminação de sangue nas fezes. A perda de fluidos corporais acarreta desidratação, que juntamente com a febre, leva a um escore de comportamento alterado. A frequência cardíaca então, eleva-se em razão da febre, e também, para compensar a volemia sanguínea inferior com maior saturação de gases no sangue. A temperatura também é responsável por alterar a frequência respiratória, quadro que é agravado pela perda de íons pelas fezes e a responsabilidade do sistema circulatório de tentar compensar alterações no pH sanguíneo.

#### 5.4. Equilíbrio ácido-base

A tabela 7 diz respeito aos valores médios das variáveis estudadas e a frequência de animais, em cada grupo, que apresentaram valores fora dos limites fisiológicos determinados por Freitas (2009).

Tabela 7: Valores médios de pH, PCO<sub>2</sub>, BE, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, TCO<sub>2</sub>, no sangue de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

Parâmetros	Dia de coleta <sup>1</sup> Grupo	1		3		5		7		9	
		Média	F	Média	F	Média	F	Média	F	Média	F
pH	Controle	7,40 Ab	1\8 A	7,37 Aa	5\8 A	7,35 Ba	7\8 A	7,37 Aa	5\8 A	7,38 Aa	4\8 A
	Monensina	7,41 Aa	1\6 A	7,41 Aa	2\6 A	7,41 Aa	2\6 A	7,41 Aa	2\6 A	7,4 Aa	0\6 A
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	Controle	52,03 Ae	1\8 A	44,83 Bbc	5\8 A	39,73 Ba	7\8 A	40,95 Aab	6\8 A	44,25 Acd	5\8 A
	Monensina	49,58 Aa	1\6 A	48,62 Aa	0\6 B	46,5 Aa	3\6 A	46 Aa	2\6 A	48,75 Aa	1\6 A
BE (mEq/L)	Controle	2,49 Ac	1\8 A	-3,86 Bab	7\8 A	-5,34 Ba	8\8 A	-4,58 Bab	7\8 A	-2,54 Ab	3\8 A
	Monensina	1,47 Aa	2\6 A	2,82 Aa	1\6 B	1,58 Aa	1\6 B	1,22 Aa	1\6 B	0,75 Aa	1\6 A
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq/L)	Controle	32,63 Ac	2\8 A	29,61 Ba	8\8 A	27,63 Ba	8\8 A	29,46 Bab	7\8 A	29,64 Ab	5\8 A
	Monensina	30,8 Aa	0\6 A	31,1 Aa	0\6 B	31,58 Aa	1\6 B	30,72 Aa	1\6 B	30,68 Aa	1\6 B
TCO <sub>2</sub> (mEq/L)	Controle	33,43 Ae	2\8 A	26,98 Bc	7\8 A	23,63 Ba	8\8 A	24,01 Bab	8\8 A	29,24 Acd	6\8 A
	Monensina	35,72 Aa	2\6 A	35,87 Aa	1\6 B	34,12 Aa	2\6 B	35,82 Aa	2\6 B	36,47 Aa	2\6 B

Para PH, PCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, TCO<sub>2</sub>: \*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, apresentam diferença estatística (teste de Duncan p<0,05); Para BE: \* Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas (teste de Friedman; p<0,05) e minúsculas nas linhas (teste de Kruskal Wallis; p<0,05) apresentam diferença estatística.

\*\* F= Frequência de bezerros com resultados fora dos parâmetros fisiológicos segundo Freitas (2009)

\*\*\* Frequências seguidas de distintas letras maiúsculas diferem entre si. (Teste exato de Fisher  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

A comparação das alterações causadas pela diarreia no perfil ácido-básico, neste experimento, foi realizada através da avaliação dos parâmetros de pH sanguíneo, pressão parcial de  $\text{CO}_2$  ( $\text{PCO}_2$ ), dióxido de carbono total ( $\text{TCO}_2$ ), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e excesso de base (BE). Observa-se pela tabela 7 que os valores encontrados nesses parâmetros variaram entre os momentos dentro do mesmo grupo experimental, assim como entre os grupos. Além disso, a frequência de valores encontrados fora dos padrões fisiológicos também variou entre os grupos analisados.

Com relação ao pH sanguíneo, o grupo controle apresentou queda no pH sanguíneo a partir do 3º dia de coleta, enquanto o grupo tratado não demonstrou variação entre os momentos (Tabela 7). Entre os grupos houve diferença estatística das médias no 5º dia. Considerando as frequências de animais com valores de pH fora do padrão fisiológico, não houve diferença estatística em nenhum momento analisado, porém, esse resultado pode ser explicado pelo pequeno número de animais por grupo. Apesar disso vale a pena destacar que 87% dos animais do grupo controle apresentaram pH sanguíneo abaixo de 7,399, o que caracteriza, para a categoria estudada, um quadro de acidose metabólica.

A redução do pH sanguíneo está relacionada com as excessivas perdas de água e de eletrólitos acompanhantes, ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$ ), que ocorrem durante os episódios de diarreia, paralelamente ao aumento nas concentrações de íons  $\text{H}^+$  e acúmulo de ácido lático no sangue (Demigné *et al.*, 1980; Argenzio, 1985; Carlson, 1997; Freitas *et al.*, 2009). Isso explica o fato de que, as maiores quedas dos valores de pH ocorreram juntamente com o período de maior eliminação de oocistos (Gráfico 1), maior escore de fezes indicando diarreia mais grave (Gráfico 2) e maior grau de desidratação (Gráfico 4).

Considerando-se a faixa de variação fisiológica do pH, em relação ao pH apresentado pelo grupo controle, assim como seu  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{PCO}_2$ , é possível afirmar que, os animais do grupo controle, apresentaram acidose metabólica compensada (Tabela 8). Essa alteração é caracterizada pela queda do pH sanguíneo abaixo dos limites fisiológicos, queda do  $\text{HCO}_3^-$  sérico devido a sua utilização pelo organismo na tentativa de controlar a acidose, e sua maior eliminação pelo fluxo aumentado fezes, e  $\text{PCO}_2$  normal ou pouco abaixo do limite fisiológico. É possível afirmar então que, com a diarreia, houve queda do pH sanguíneo, possivelmente, tanto pelo aumento de eliminação de  $\text{HCO}_3^-$  pelas fezes, quanto pela maior produção de ácido lático devido a menor perfusão sanguínea causada pela anemia. Allen e Kutler (1981) afirmaram que a acidose

metabólica não compensada é observada principalmente em casos fatais, porém, no presente estudo não aconteceram óbitos.

Tabela 8: Valores médios do período de PH, PCO<sub>2</sub>, BE, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e TCO<sub>2</sub>, de bezerras inoculadas experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos primeiros 10 dias após o início da eliminação de oocistos.

Parâmetros	Grupo Monensina		Grupo controle	
	Média	P	Média	P
PH	7,41 A	20	7,38 B	55
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	43,27 A	5	29,68 B	60
BE	6,37 A	5	2,63 B	65
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq\L)	30,98 A	10	27,26 B	75
TCO <sub>2</sub> (mEq\L)	35,60 A	20	27,46 B	80

Para PH, PCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, TCO<sub>2</sub>: \*Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (teste de Duncan p<0,05);

Para BE: \* Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (teste de Friedman p<0,05)

O grupo tratado com monensina sódica não apresentou nenhum tipo de variação estatisticamente significativa dos valores de pH. Esse fato está relacionado com o resultado do tratamento que foi capaz de inibir diarreias graves, e assim, o organismo animal foi capaz manter mínima a variação de seu pH sanguíneo.

Em casos de eimeriose grave, causada por *Eimeria zuernii*, pode ocorrer eliminação de grande quantidade de sangue pelas fezes. Esse quadro agrava a acidose, pois o organismo aumenta a produção de lactato e a concentração de H<sup>+</sup>, e diminui as concentrações de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, em razão da menor capacidade de transporte de íons e gases pelo sangue e pelas perdas de tecido sanguíneo (Carlson, 1997). De fato, o animal que apresentou o menor pH sanguíneo (7,278), foi o que desenvolveu diarreia de sangue mais severa e levou um período mais longo para se recuperar.

A variação de pH sanguíneo em experimentos com diarreia na literatura, depende do protocolo utilizado, condições de manejo e ambientais, e idade dos animais. Constable (1996) e Flores (2005), não encontraram diferença (p<0,05) no pH sanguíneo. Walker *et al.* (1998), Ferreira (2001) e Leal *et al.*, (2008) encontram redução significativa (p<0,05) do pH sanguíneo após a indução da diarreia osmótica, assim como Freitas *et al.*, (2009), que encontrou redução de pH significativa (p<0,05), em bezerras com diarreias naturalmente adquiridas. Coelho (2007), observou queda significativa do pH sanguíneo (p<0,05), em animais com anemia causada por *Anaplasma marginale*.

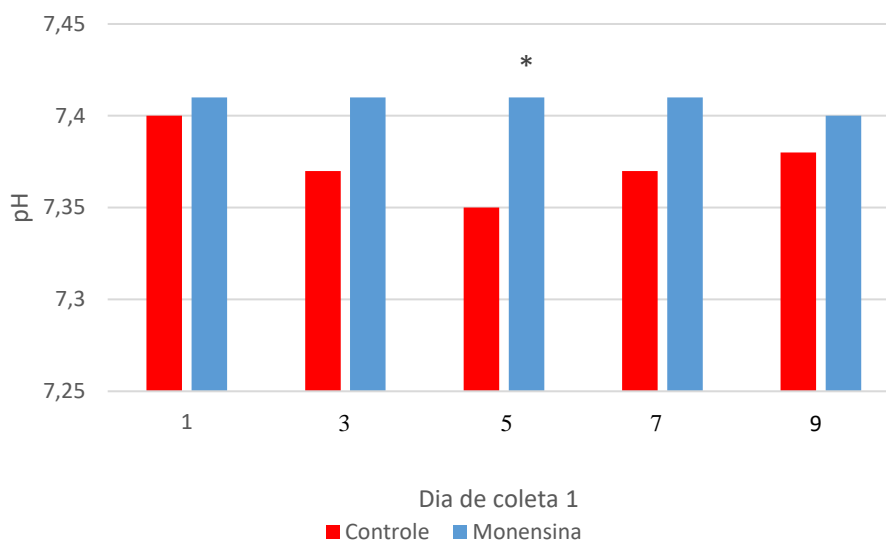


Gráfico 5: Comportamento do pH sanguíneo médio de bezerras inoculadas experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (teste de Duncan p<0,05)

O comportamento das concentrações séricas do  $\text{HCO}_3^-$  (Gráfico 6),  $\text{PCO}_2$  (Gráfico 7) e BE (Gráfico 8) foi semelhante ao comportamento do PH (Gráfico 5), tanto para os animais tratados quanto para os animais do grupo controle.

No grupo controle, as concentrações de  $\text{HCO}_3^-$  declinaram a partir do terceiro dia de eliminação de oocistos e permaneceram mais baixos durante todo o tempo, em relação ao momento do início da avaliação (momento 1). A concentração sanguínea média de  $\text{HCO}_3^-$  foi menor (p<0,05) nos animais pertencentes ao grupo controle em relação ao tratado, em três dos dias de coleta (3, 5 e 7). Nestes mesmos momentos, no grupo controle, podemos verificar maior frequência de animais com valores de bicarbonato fora dos limites fisiológicos segundo Freitas (2009). Não houve variação significativa entre os momentos dentro do grupo tratado.). Correlacionando-se os gráficos 1 e 2, com os resultados de  $\text{HCO}_3^-$  apresentados, observa-se que no momento de maior eliminação de oocistos por grama de fezes e diarreia mais grave, ocorre também a menor concentração de bicarbonato observada, isso é um reflexo da perda de íons bicarbonato pelas fezes e pelo sangue, em casos de diarreia sanguinolenta, assim como a utilização desse íon pelo organismo na tentativa de evitar a queda do pH sanguíneo. (Bangoura e Daughes, 2007b Demigné *et al.*, 1980).

Mais uma vez a monensina sódica utilizada foi capaz de impedir mudanças significativas no metabolismo animal. Isso se deve ao fato da monensina evitar casos de eimeriose grave, com



consequente diarreia intensa, diminuindo assim a quantidade de bicarbonato sérico perdido no fluxo aumentado de fezes. Além disso, o produto evitou também, ocorrências de diarreia sanguinolenta no grupo tratado, o que diminuiria ainda mais a concentração de bicarbonato pelo mesmo ser perdido no sangue (Paes *et al.*, 2009). Allen e Kutler (1981), Rolland (2014), e Coelho (2007), encontraram correlação alta e positiva entre a anemia, diagnosticada por hematócrito, e a queda dos níveis de  $\text{HCO}_3^-$ .

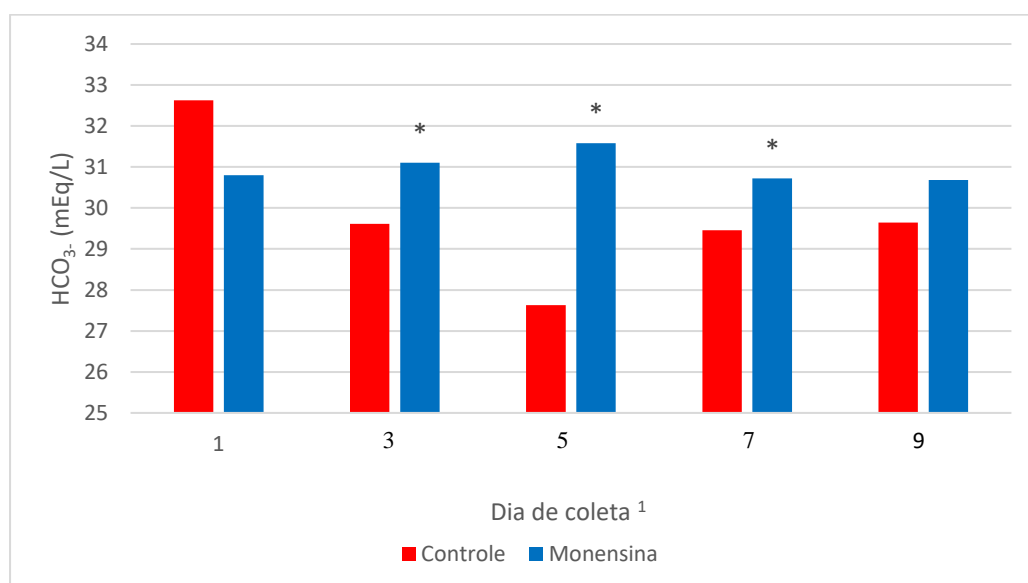


Gráfico 6: Comportamento do  $\text{HCO}_3^-$  sérico médio de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (teste de Duncan  $p < 0,05$ )

Semelhante ao comportamento do  $\text{HCO}_3^-$ , a pressão parcial de  $\text{PCO}_2$  apresentou-se estatisticamente diferente entre os dois grupos avaliados nos 3º e 5º dias de coleta. O grupo tratado não apresentou variação durante os momentos e, em contrapartida, o grupo controle apresentou vários momentos de variação. A frequência de animais abaixo do valor fisiológico entre os dois grupos demonstrou diferença relevante (Tabela 7).

A redução do  $\text{PCO}_2$  é geralmente explicada pelo aumento da frequência respiratória durante o período patente. A redução do pH sanguíneo estimula uma hiperventilação pulmonar, resultando em redução do  $\text{PCO}_2$ , para manutenção do equilíbrio ácido-básico (Tietz *et al.*, 1996). Além disso, em casos de perda sanguínea há aumento da frequência respiratória para compensar a hipovolemia sanguínea. Em casos de eimeriose com diarreia de sangue, esses dois eventos ocorrem mutuamente (Wanduragala e Ristic, 1993; Radostits *et al.*, 2002).

$\text{TCO}_2$  e BE apresentaram também o mesmo perfil de variação exibido pelo bicarbonato. Este comportamento é observado porque todos estes parâmetros estão estreitamente relacionados com a concentração sérica do bicarbonato, que é o íon que sofre maior depleção em suas reservas corporais durante os episódios de diarreia de ocorrência natural, com ou sem excreção de sangue (Argenzio, 1985; Carlson, 1997; Naylor, 1999; Naylor *et al.*, 2006). A redução significativa nas concentrações de  $\text{HCO}_3^-$ , principal ânion extracelular e, mesmo com a redução dos níveis de  $\text{Na}^+$ , principal cátion do LEC, explica as alterações dos valores de BE (Carlson, 1997; Naylor, 1999). Além disso, a produção excessiva de lactato pelos tecidos musculares, em casos de perda sanguínea pelas fezes e posterior hipóxia tecidual, também interfere nos valores de excesso de bases encontrado.

Sendo o  $\text{TCO}_2$  a soma dos valores de bicarbonato (maior parte do  $\text{CO}_2$ ) e  $\text{CO}_2$  dissolvido, seu valor é diretamente dependente das influências metabólicas e respiratórias, e, portanto, a interpretação de seus resultados é limitada uma vez que, com a queda na concentração de  $\text{HCO}_3^-$  na corrente sanguínea ocorre também, decréscimo dos valores de  $\text{TCO}_2$ .

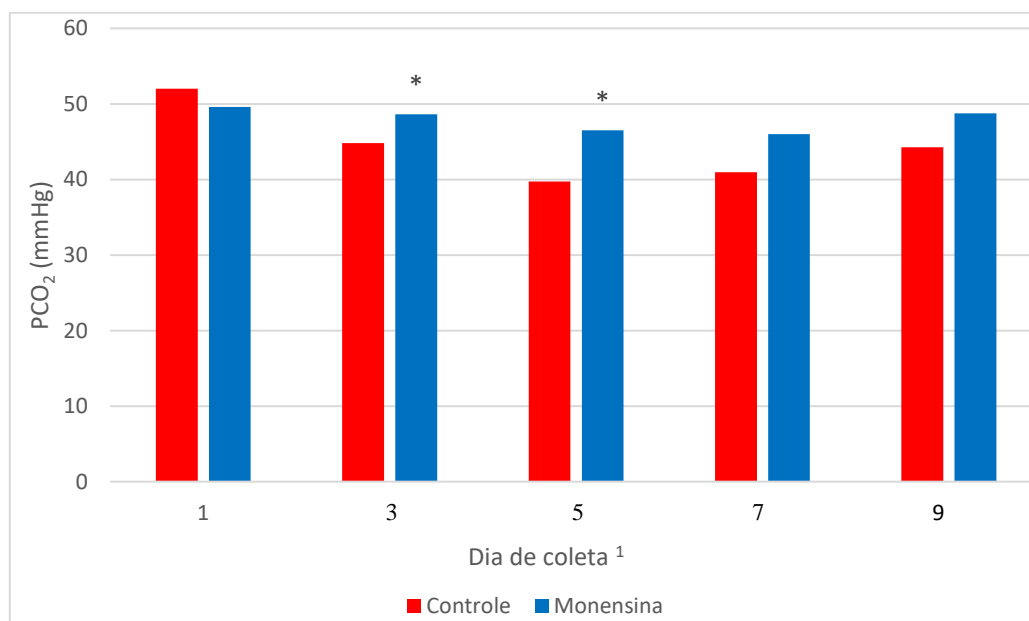


Gráfico 7: Comportamento do  $\text{PCO}_2$  médio de bezerras inoculadas experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (teste de Duncan  $p < 0,05$ )

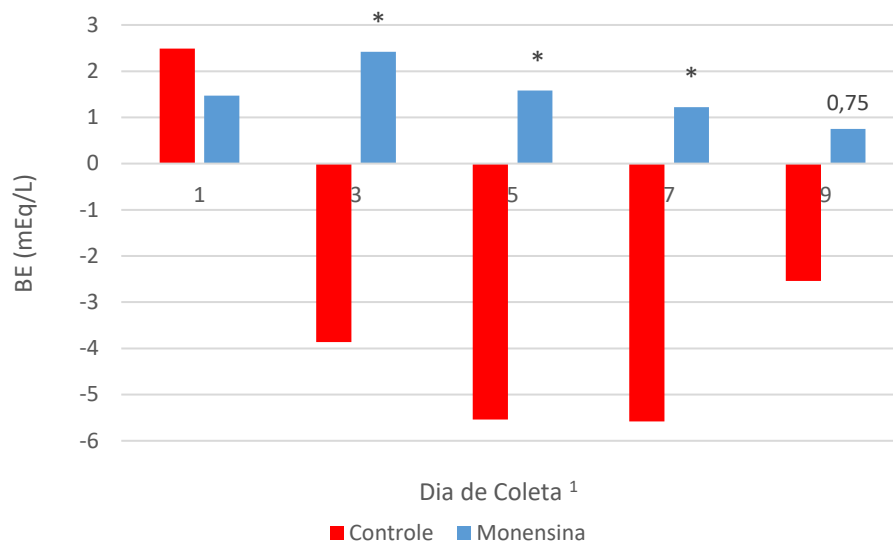


Gráfico 8: Comportamento de BE média de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (Teste de Friedman  $p < 0,05$ )

Comparando-se os resultados das análises do equilíbrio ácido base com os resultados dos exames clínicos, é possível observar que esses são congruentes, ou seja, os momentos de maior eliminação de oocistos e consequentemente, diarreias mais graves (maior escore de fezes), acontecem juntamente com a queda nos valores dos parâmetros do equilíbrio ácido base. A acidose metabólica encontrada nos animais do grupo controle, caracterizada por redução do pH sanguíneo e dos valores séricos das concentrações de bicarbonato,  $PCO_2$ ,  $TCO_2$ , e EB, corrobora com os resultados obtidos por diversos autores (Demigné *et al.*, 1980; Argenzio, 1986; Naylor, 1987; Naylor, 1989; Naylor, 1999; Naylor *et al.*, 2006; Leal *et al.*, 2008).

Comparando-se todos os resultados apresentados concluímos que a quantidade de oocistos eliminados e o grau de gravidade da diarreia apresentada, influi na queda do pH sanguíneo, levando a acidose metabólica compensada. Com a queda do pH, na tentativa de compensação pelo organismo, ocorre a diminuição da concentração sérica de bicarbonato e queda do  $TCO_2$ . O  $PCO_2$  então sofre queda, devido a reação de compensação pulmonar à queda do pH sanguíneo. No grupo tratado com monensina não foram observadas variações do equilíbrio ácido base, uma vez que a monensina foi eficiente em controlar a infecção por *E. zuernii*, refletindo na ausência de diarreia e suas consequências.

## 5.5. Equilíbrio eletrolítico

A tabela 9 apresenta os valores médios das variáveis estudadas e a frequência de animais, em cada grupo, que apresentaram valores fora dos limites fisiológicos segundo Freitas (2009).

Tabela 9: Valores de concentrações médias de Na, K e Ca, e frequência de valores encontrados fora do limiar fisiológico, De bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

Parametros	Grupo	Dia de coleta <sup>1</sup>		1		3		5		7		9	
		Média	F	Média	F	Média	F	Média	F	Média	F	Média	F
Na+(mEq/L)	Controle	146,38 Ac	2\8 A	136,75 Aabc	5\8 A	134,75 Ba	6\8 A	133,63 Aab	5\8 A	137,5 Ac	4\8 A		
	Monensina	139,17 Aa	1\6 A	140,5 Aa	1\6 A	142 Aa	1\6 A	138,83 Aa	1\6 A	138,67 Aa	1\6 A		
K+ (mEq/L)	Controle	4,69 Ad	1\8 A	4,72 Acd	2\8 A	4,78 Aab	4\8 A	4,92 Aa	5\8 A	4,62 Ac	4\8 A		
	Monensina	4,52 Aa	0\6 A	3,9 Aa	1\6 A	4,4 Aa	2\6 A	4,42 Aa	2\6 A	4,26 Aa	1\6 A		
Ca++(mEq/L)	Controle	7,91 Ae	4\8 A	6,28 Bc	8\8 A	5,05 Bab	8\8 A	5,21 Ba	8\8 A	7,09 Acd	7\8 A		
	Monensina	10,72 Aa	0\6 A	10,68 Aa	1\6 B	10,95 Aa	1\6 B	11,92 Aa	2\6 B	11,68 Aa	2\6 A		

\*Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, apresentam diferença estatística (teste de Duncan  $p < 0,05$ )

\*\* F= Frequência de bezerros com resultados fora dos parâmetros fisiológicos segundo Freitas (2009) e Radostits *et al.* (2007)

\*\*\* Frequências seguidas de distintas letras maiúsculas diferem entre si. (Teste exato de Fisher  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Dias= Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

A concentração de sódio (Na) sérico não variou em nenhum dos momentos de análise no grupo tratado com monensina, porém, o grupo controle apresentou variação significativa entre os momentos analisados (Tabela 9). Houve diferença significativa entre as médias diárias dos grupos para no 5º dia de coleta, sendo que o grupo tratado apresentou média superior ao grupo controle. A frequência de animais fora do padrão fisiológico também não apresentou diferença estatística em nenhum dos momentos analisados.

A monensina sódica administrada foi eficiente em diminuir a gravidade da diarreia apresentada pelo grupo tratado, assim como seu grau de desidratação. Provavelmente por esse motivo, o grupo tratado apresentou menor queda nos níveis de Sódio sérico.

Hiponatremia ocorreu em mais de 50% dos animais do grupo controle no pico da diarreia (Dias de coleta 3, 5 e 7). A hiponatremia em casos de eimeriose ocorre pelo aumento da eliminação de sódio pelas fezes, e pelo sangue possivelmente presente nas mesmas (Bangoura e Daughies, 2007a). O momento em que houve diferença estatística entre as médias dos grupos, é congruente ao momento de maior OoPG e diarreia mais grave, além de menores pH e concentrações de  $\text{HCO}_3^-$ , induzindo ao pensamento que em diarreias mais graves com acidose metabólica, a hiponatremia também pode estar presente.

O volume do LEC é diretamente dependente do conteúdo de sódio corporal total e sua concentração sérica é determinada pelo equilíbrio eletrolítico. Entretanto, não há relação entre a concentração sérica e o conteúdo total de sódio corporal. A sua concentração está diretamente ligada com o conteúdo de água do LEC (Angelos e Van Mestre, 1999; DiBartola 2000). Não há sintomas específicos que caracterizem a hiponatremia. Normalmente, verifica-se desidratação, fraqueza muscular e depressão, que ocorrem quando há outros distúrbios eletrolíticos e do balanço ácido-básico (Angelos e Van Mestre, 1999; DiBartola, 2000; Radostits *et al.*, 2007). Hiponatremia grave, com valores inferiores a 115mmol/L em bovinos, pode levar a um quadro de edema ou hemorragia cerebral ou até a morte súbita (DiBartola, 2000).

A manutenção da concentração de sódio entre os grupos, que foram diferentes somente no 5º dia de coleta (Gráfico 9) pode ser em parte explicada pelo fato de que, muitos animais diarreicos não apresentaram redução na concentração de sódio, pois, na maioria das diarreias as perdas são isotônicas ao sangue, inalterando a concentração de Na sérico (Angelos e Van Mestre, 1999; Berchetold, 1999). Esse fato também explicaria a ausência de diferença estatísticas entre a frequência de animais fora do padrão fisiológico.

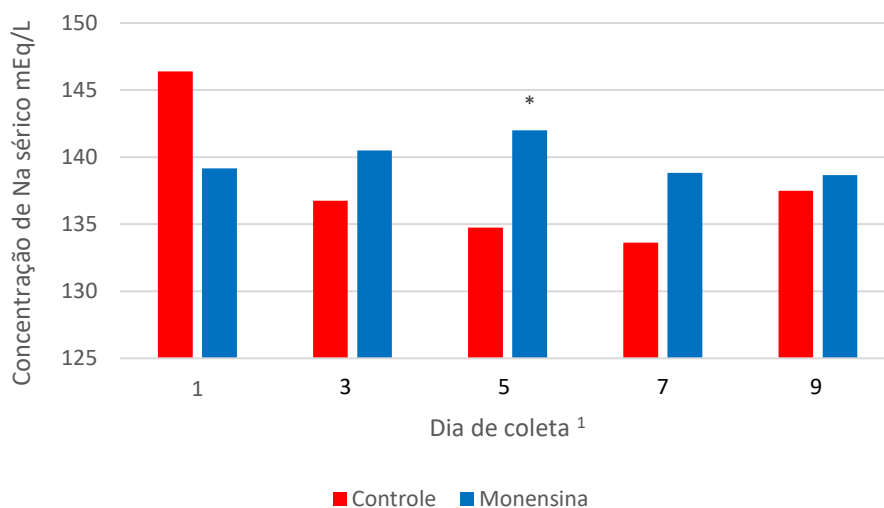


Gráfico 9: Comportamento de Na<sup>+</sup> médio sérico de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (Teste de Duncan p<0,05)

O potássio (Gráfico 10) apresentou comportamento semelhante ao sódio (Gráfico 9) em alguns aspectos. O grupo tratado não apresentou variação durante os momentos de coleta e o grupo controle variou significativamente. Não houve diferença significativa entre as médias dos dois grupos, assim como, não ocorreu variação estatística entre a frequência de animais com valores fora do limiar fisiológico entre os dois grupos. No grupo controle, ocorreu aumento das concentrações séricas de potássio no 5º dia, ou seja, naquele com maior alteração pela acidose metabólica. Cerca de 50% dos bezerros apresentaram hipercalemia nos dias 3,7 e 9. O aumento

na concentração plasmática de potássio é observado comumente em diarreias causadas por vários agentes etiológicos (Berchtold, 1999; Naylor, 1999, Santos *et al.*, 2002, Freitas, 2007).

Mesmo que haja redução das reservas corporais de potássio, em casos de desidratação por diarreias seguidos de acidose metabólica compensada, ocorre hipercalemia sanguínea. Esse fato é consequência da perda de bicarbonato pelas fezes, aumentando a concentração dos íons H<sup>+</sup>, levando a acidose. Para que haja manutenção da eletroneutralidade, há entrada de íons H<sup>+</sup> no meio intracelular, e como consequência, excreção de K<sup>+</sup> para o líquido extracelular, aumentando a concentração sérica de potássio. A esse fato denomina-se hipercalemia relativa (Tennant *et al.*, 1972; Argenzio, 1986; Sweeney, 1999; DiBartola, 2000; Freitas, 2009)). A hipocalemia normalmente é observada em diarreias extremamente graves, onde, a acidose metabólica está descompensada e geralmente o animal vem a óbito (DiBartola, 2000; Santos *et al.*, 2002).

Em casos de diarreias severas, comumente se observa uma desidratação hipotônica, com hiponatremia e hipercalemia (Berchtold, 1999; Naylor, 1999; Santos *et al.*, 2002). No presente trabalho, essas condições foram encontradas em 50% dos animais do grupo controle e em nenhum dos animais do grupo tratado com monensina, implicando que o medicamento é capaz de manter a infecção por *E. zuernii* em níveis baixos, refletindo no equilíbrio dos eletrólitos.

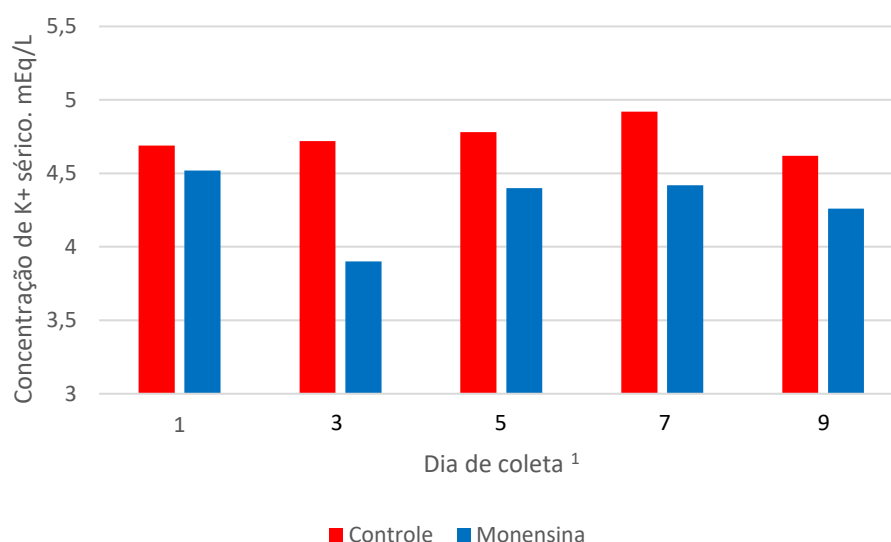


Gráfico 10: Comportamento de K<sup>+</sup> médio sérico de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

Dos íons analisados, o cálcio foi o que apresentou a maior variação (Tabela 9). Não houve variação significativa entre momentos do grupo tratado. O grupo controle, entretanto, apresentou variação em vários momentos analisados. Houve diferença entre a comparação das médias dos grupos nos 3<sup>o</sup>, 5<sup>o</sup> e 7<sup>o</sup> dias de coleta, sendo que o grupo tratado sempre apresentou

maior concentração sérica de cálcio. Além disso, nestes momentos, a frequência de animais hipocalcêmicos no grupo controle foi mais alta e atingiu 100% dos bezerros.

A queda da concentração de cálcio nos animais do grupo controle (Gráfico 11), pode ser explicada, pela perda do mesmo no fluxo aumentado de fezes. Além disso, a diarreia de sangue apresentada por animais contaminados por *E. zuernii*, pode ser responsável por grande parte desse achado, tendo em vista que o  $\text{Ca}^{++}$  é o principal íon envolvido na cascata de coagulação sanguínea (Rapaport, 1990). De fato, os momentos de maior queda na concentração sanguínea de cálcio, coincide com contagens altas de OoPG e escore de fezes alterados, indicando diarreia com grande volume de sangue. A monensina mais uma vez se mostrou eficiente em evitar variações críticas do íon analisado, provavelmente por evitar infecções graves com elevada perda de líquido e tecido sanguíneo pelas fezes.

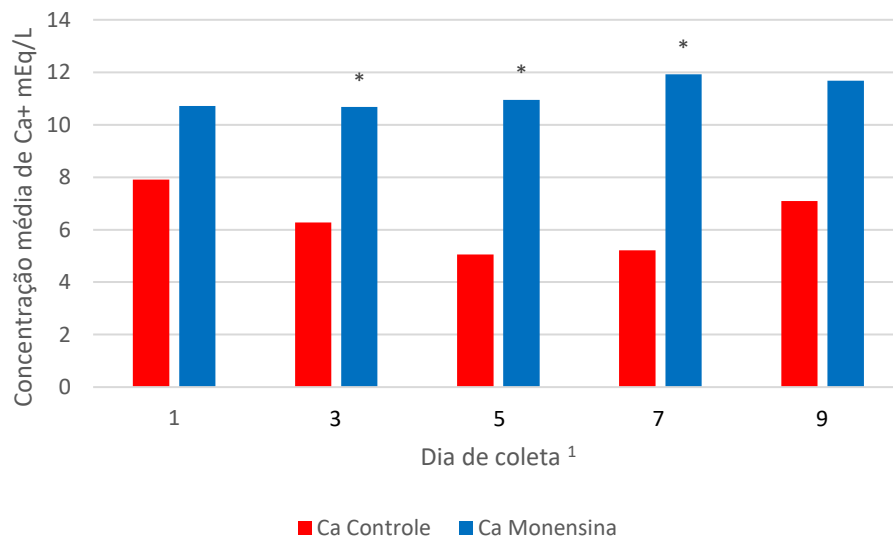


Gráfico 11: Comportamento de  $\text{Ca}^{++}$  médio sérico de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (Teste de Duncan  $p < 0,05$ )

## 5.6. Eritrograma

Os valores médios de hematócrito (Hct) apresentados pelos bezerros do grupo controle e do grupo tratado com monensina diferiram estatisticamente no 5° e no 7° dia de coleta, conforme demonstrado na tabela 10.

Tabela 10: Valores médios de Hct, Hgb, VCM, HCM, CHCM e RDW e frequência de valores encontrados fora do limiar fisiológico, de bezerros inoculados experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

Parametros	Grupo	Dia de coleta <sup>1</sup>											
		1		3		5		7		9			
		Média	F	Média	F	Média	F	Média	F	Média	F		
Hct (%)	Controle	26,86 Ab	4\8 A	21,69 Aa	6\8 A	20,49 Aa	8\8 A	19,81 Aa	8\8 A	21,17 Aab	5\8 A		
	Monensina	23,45Aa	0\6 A	24,63Aa	0\6 A	24,94 Ba	1\6 B	25,03 Ba	2\6 B	24,64 Aa	0\6 A		
Hgb (g\dl)	Controle	8,06 Ac	4\8 A	7,28 Aab	6\8 A	7,04 Aa	6\8 A	6,99 Aa	6\8 A	7,12 Abc	5\8 A		
	Monensina	7,43 Aa	1\6 A	7,83 Aa	1\6 A	7,5 Aa	1\6 A	7,81 Aa	1\6 A	7,75 Aa	1\6A		
VCM (fl)	Controle	30,3 Aa	8\8 A	29,85 Aab	8\8 A	31,29 Aabc	8\8 A	32,3 Ac	8\8 A	32,35 Ac	8\8 A		
	Monensina	29,5 Bb	6\6 A	28,67 Bb	6\6 A	29,28 Ab	6\6 A	29,68 Bb	6\6 A	26,9 Ba	6\6 A		
HCM (pg)	Controle	9,23 Aa	1\8 A	9,05 Aa	1\8 A	8,86 Aa	2\8 A	8,01 Aa	8\8 A	8,6 Ba	8\8 A		
	Monensina	9,27 Aa	1\6 A	9,05 Aa	1\6 A	8,28 Aa	1\6 A	8,72 Aa	1\6 B	9,59 Aa	1\6 B		
CHCM(g\dl)	Controle	29,48 Aa	1\8 A	31,76 Aa	0\8 A	29,99 Aa	1\8 A	28,8 Ba	8\8 A	27,76 Ba	8\8 A		
	Monensina	31,17 Aa	0\6 A	31,9 Aa	0\6 A	30,62 Aa	1\6 A	30,27 Aa	1\6 B	30,85 Aa	1\6 B		
RDW (%)	Controle	22,88 Aa	1\8 A	22,96 Aa	2\8 A	22,93 Aa	4\8 A	24,35 Aa	8\8 A	23,2 Aa	8\8 A		
	Monensina	22,93 Aa	1\6 A	22,43 Aa	1\6 A	22,48 Aa	1\6 A	22,6 Aa	1\6 B	21,77 Aa	1\6 B		

\* Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, apresentam diferença estatística (teste de Duncan  $p < 0,05$ )

\*\* F= Frequência de bezerros com resultados fora dos parâmetros fisiológicos segundo Peixoto et al. (2002)

\*\*\* Frequências seguidas de distintas letras maiúsculas diferem entre si. (Teste exato de Fisher  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

O grupo controle apresentou diferença estatística entre os momentos analisados, enquanto o grupo tratado não exibiu o mesmo comportamento para a variável Hct. Os animais do grupo controle apresentaram diminuição do volume globular a partir do terceiro dia de eliminação de oocistos e este permaneceu baixo até o final do período de acompanhamento. Todos os animais desse grupo apresentaram hematócrito abaixo dos parâmetros fisiológicos no quinto e sétimo dia do período patente, demonstrando a ocorrência de anemia neste grupo. A concentração de hemoglobina apresentou comportamento semelhante no grupo controle, apesar de não ter ocorrido diferenças entre os grupos (Tabela 10).

Por meio da análise do Hct juntamente com os outros parâmetros da tabela 10 (VCM, CHCM, HCM, RDW), é possível classificar a anemia apresentada como anemia normocítica normocrômica nos três primeiros momentos de coleta. Esse tipo de achado pode levar a interpretação de que a anemia é arregenerativa por possíveis distúrbios da eritropoiese, porém,



segundo Paes et al.(2009), a anemia causada por perdas de sangue agudas apresentam esse comportamento durante 4 a 7 dias após a hemorragia. Depois desse período ocorre macrocitose com hipocromia, e após 10 dias da finalização da hemorragia, os parâmetros voltam ao normal. De fato, a partir do 5º dia de coleta, os animais do grupo controle modificaram o seu perfil sanguíneo, apresentando elevação de VCM e decréscimo de CHCM e Hct considerando os limites fisiológicos de referência para a categoria, indicando, assim, que o organismo animal estava responsivo às alterações hematológicas liberando hemácias mais jovens para a circulação.

Cruzando-se esse resultado com o gráfico 1, podemos observar que os momentos que apresentaram maior frequência de animais com anemia e também menor Hct, são congruentes com a maior taxa de eliminação de oocistos e também maior escore de fezes. Então, pode-se afirmar que a diarreia sanguinolenta acarretou a anemia apresentada. Além disso, somente após a elevação do escore de fezes no grupo controle, indicando maior quantidade de sangue nas fezes, ocorre aumento de VCM e RDW, e queda de HCM e CHCM no mesmo grupo, indicando a responsividade da medula óssea a anemia (Coelho 2007; Paes et al., 2009).

No grupo tratado com monensina, não foi observada a ocorrência de anemia, uma vez que houve uma menor intensidade da infecção por *E. zuernii* e de suas consequências. Tendo em vista que a eimeriose é uma doença que num primeiro momento causa desidratação pelo aumento do fluxo de fezes, e posteriormente pode causar anemia pela imensa perda de sangue pelas fezes, o comportamento do Hct apresentado pelo grupo controle é justificável. No primeiro dia de coleta, o Hct estava aumentado, sugerindo a desidratação dos animais desse grupo (Constable, 1996; Walker *et al.*, 1998). A partir desse momento, com o aumento do escore de fezes, indicando diarreia com sangue (Gráfico 2) ocorre a queda do hematócrito (Gráfico 12) indicando o início do período de anemia (Rolland *et al.*, 2014)

Realizando-se a análise de correlação entre hematócrito e concentração sérica de  $\text{HCO}_3^-$ , observou-se correlação alta e positiva (+ 0,70) entre os dois parâmetros. Esse resultado indica que a anemia apresentada por animais infectados por *E. zuernii* é uma das responsáveis pela acidose metabólica apresentada. Provavelmente, esse fato se deve a queda da perfusão sanguínea em órgãos e tecidos dos animais anêmicos, seguida pela maior produção de ácido láctico pela respiração anaeróbia celular, com posterior acúmulo de  $\text{H}^+$  sanguíneo e uso de  $\text{HCO}_3^-$  com tampão (Daughies et al., 1997; Bangoura e Daughies 2007a). Além disso, há

queda da função de equilíbrio ácido-base de pulmões e rins, pela menor capacidade do organismo em transportar  $H^+$  e  $CO_2$  (Coelho 2007; Leal *et al.*, 2007).

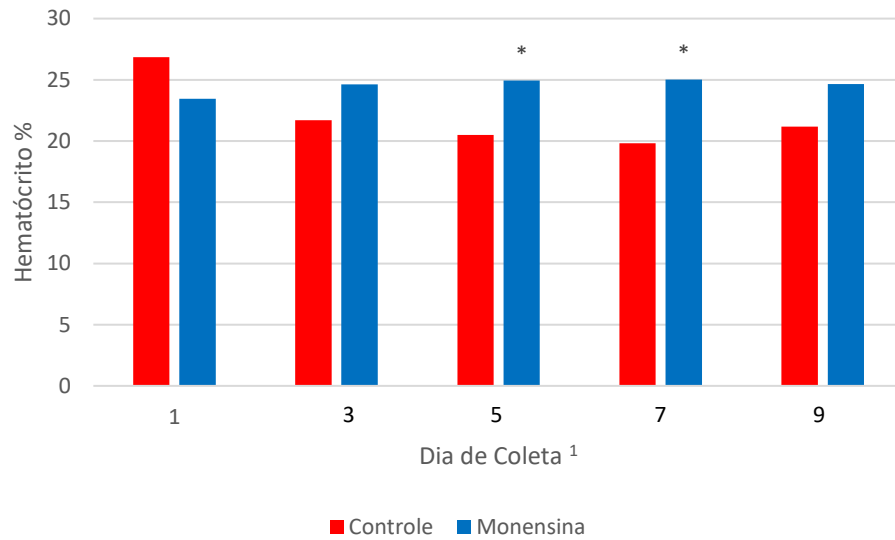


Gráfico 12: Comportamento do Hematócrito médio de bezerras inoculadas experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (Teste de Duncan  $p < 0,05$ )

Os resultados de Hemoglobina total (Hb) apresentaram pouca variação estatística. As análises entre frequências de animais fora do patamar fisiológico entre grupos e entre as médias diárias por grupo não apresentaram relevância estatística, demonstrando um mesmo comportamento da variável entre os grupos estudados (Gráfico 13). A única diferença estatística observada foi que o grupo controle apresentou variação entre os dias de coleta. A monensina age diminuindo a carga parasitária capaz de penetrar as células intestinais, e consequentemente, mantém a diarreia sanguinolenta sob controle (Zanine *et al.*, 2006; Gonzales *et al.*, 2001), e provavelmente por esse motivo, foi observado diferença estatística entre os dias do grupo controle e não do grupo tratado.

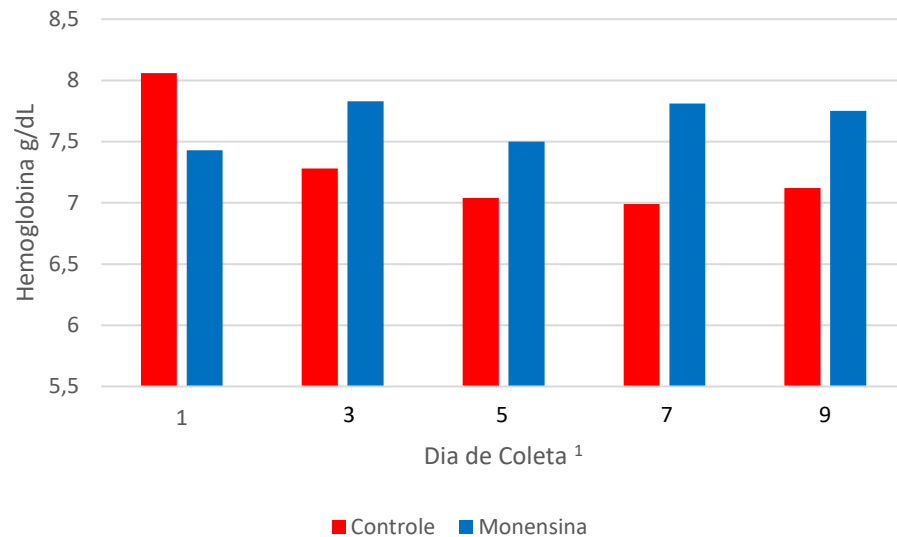


Gráfico 13: Comportamento da concentração de hemoglobina média de bezerras inoculadas experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

## 5.7. Leucograma

Conforme apresentado na tabela 11, não houve diferença estatística em nenhuma das comparações realizadas para as contagens médias de linfócitos e neutrófilos. Não houve diferença estatística na contagem de linfócitos entre os grupos experimentais, nem entre os dias do mesmo grupo. Esse fato, provavelmente se deve a idade (todos menores que 30 dias de idade) dos animais experimentais. Os linfócitos são responsáveis pela resposta humoral do organismo, e os animais com menos de 70 dias de idade não possuem esse tipo de defesa em um grau satisfatório, contando com os anticorpos passados via colostro (Santos, 1987; Paes *et al.*, 2009).

Tabela 11: Valores médios de contagem de linfócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos e frequência de animais com valores fora do limite fisiológico (F), de bezerras inoculadas experimentalmente ao terceiro dia de vida com oocistos de *Eimeria zuernii*, tratados (n=6) ou não (n=8) com monensina sódica (0,5mg/kg PV/dia) via oral, nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o início da eliminação de oocistos.

Parametros	Grupo	Dia de coleta <sup>1</sup> 1		3		5		7		9	
		Média	F	Média	F	Média	F	Média	F	Média	F
Linfócitos (cels/mm <sup>3</sup> )	Controle	4290 Aa	0\8 A	4170 Aa	1\8 A	4760 Aa	2\8 A	4170 Aa	3\8 A	4570 Aa	3\8 Aa
	Monensina	5060 Aa	0\6 A	3920 Aa	0\6 A	3530 Aa	0\6 A	2980 Aa	1\6 A	3360 Aa	0\6 Aa
Macrófagos (cels/mm <sup>3</sup> )	Controle	550 Aa	0\8 A	840 Aa	3\8 A	1740 Ab	8\8 A	1630 Ab	8\8 A	1700 Ab	8\8 A
	Monensina	470 Aa	0\6 A	420 Aa	0\6 A	590 Ba	0\6 B	580 Ba	0\6 B	550 Ba	0\6 B
Neutrófilos (cels/mm <sup>3</sup> )	Controle	4140 Aa	0\8 A	4000 Aa	1\8 A	3970 Aa	2\8 A	4240 Aa	1\8 A	4400 Aa	0\8 A
	Monensina	4930 Aa	0\6 A	5520 Aa	0\6 A	4450 Aa	0\6 A	3820 Aa	0\6 A	3280 Aa	1\6 A
Eosinófilos (cels/mm <sup>3</sup> )	Controle	470 Aa	1\8 A	640 Aa	1\8 A	1300 Ab	3\8 A	2490 Ac	7\8 A	1800 Abc	4\8 A
	Monensina	350 Aa	0\6 A	330 Ba	0\6 A	330 Ba	0\6 A	330 Ba	0\6 B	270 Ba	0\6 A
Basófilos (cels/mm <sup>3</sup> )	Controle	130 Aa	8\8 A	130 Aa	8\8 A	120 Aa	8\8 A	150 Aa	8\8 A	160 Aa	8\8 A
	Monensina	160 Aa	6\6 A	190 Aa	6\6 A	140 Aa	6\6 A	120 Aa	6\6 A	110 Aa	6\6 A

\* Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, apresentam diferença estatística (teste de Duncan  $p < 0,05$ )

\*\* F= Frequência de bezerros com resultados fora dos parâmetros fisiológicos segundo Peixoto et al. (2002)

\*\*\* Frequências seguidas de distintas letras maiúsculas diferem entre si. (Teste exato de Fisher  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

A contagem de macrófagos apresentou diferença estatística entre os grupos, no 5<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup> e 9<sup>o</sup> dia de coleta, sempre com contagens superiores no grupo controle (Tabela 11). Taubert, et al. (2009) constataram aumento da população de macrófagos na região intestinal durante infecções por *Eimeria zuernii*. Segundo o autor, há estímulo da migração dessas células pela invasão do parasito, e posteriormente, estímulo na produção e liberação de macrófagos nos mesmos sítios. Comparando-se a tabela 11, com os gráficos 1 e 2, observa-se aumento da contagem de macrófagos, durante e após a maior taxa de eliminação de oocistos e diarreia mais grave, corroborando com a hipótese acima citada. A monensina, provavelmente também, por impedir a penetração do parasito na mucosa intestinal, obteve sucesso em manter a população de macrófagos do grupo tratado sempre dentro dos limites fisiológicos.

A contagem de neutrófilos e basófilos, a exemplo da de linfócitos, não apresentou diferença estatística em nenhuma das análises realizadas (Tabela 11). A contagem de eosinófilos apresentou diferença estatística, entre suas médias, nos momentos 3, 5, 7 e 9, sendo que, o grupo controle, em todos os momentos, exibiu resultado superior. Uma das funções dos eosinófilos no sistema imune é atacar e destruir agentes patogênicos (Birgel Júnior *et al.*, 2001, Paes *et al.*, 2009), dessa forma, o aumento da contagem dessas células nos períodos de maior parasitemia é esperado. Esse resultado foi também observado por Taubert, *et al.* (2009), em bezerros experimentalmente infectados por *Eimeria bovis*. A eosinofilia observada na tabela 11, acontece nos picos de eliminação de oocistos e de diarreia mais profunda (Gráfico 1 e 2), ou seja, no momento em que há maior população parasitária invasora nos tecidos animais. A monensina utilizada no grupo tratado, mais uma vez, foi capaz de evitar alterações além do limiar fisiológico nos bezerros desse grupo, provavelmente por diminuir a carga infectante e a gravidade da doença nos animais. O comportamento das variáveis estudadas é demonstrado no gráfico 14.

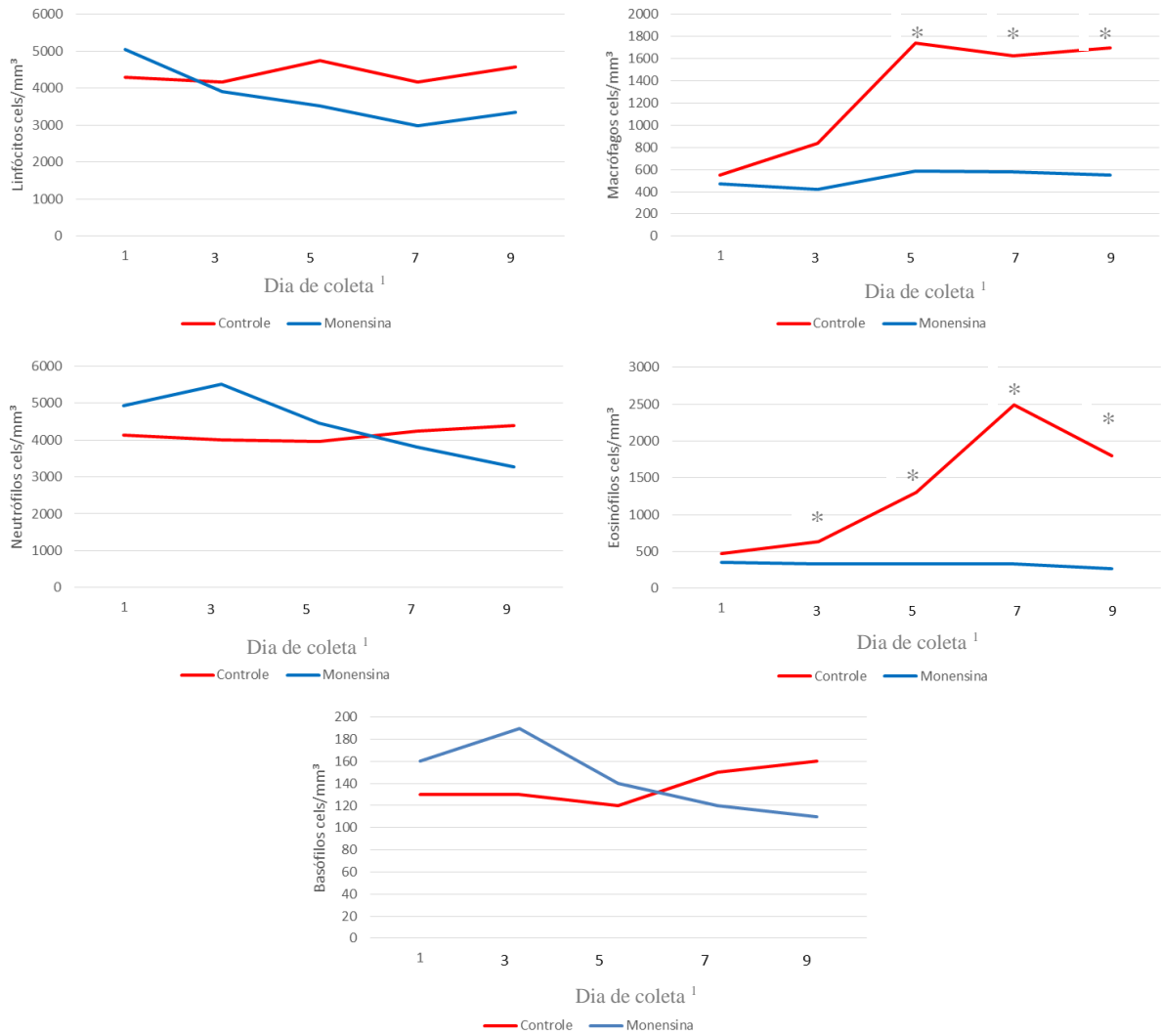


Gráfico 14: Comportamento dos parâmetros de leucograma, linfócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos, durante o período experimental.

<sup>1</sup> Dia de coleta após o início da eliminação de oocistos

\* Médias entre os grupos experimentais diferem entre si. (Teste de Duncan  $p < 0,05$ )

## 6. CONCLUSÕES

O protocolo de inoculação, utilizando-se de 175 mil oocistos infectantes na primeira dose, com dose de reforço de 51 mil oocistos, após uma semana, foi eficiente em reproduzir a eimeriose clínica sem a utilização conjunta de corticoides.

O grupo tratado com monensina sódica apresentou doença de menor gravidade que o grupo controle, caracterizada por menor excreção de oocistos nas fezes e quadro diarreico menos intenso.

Os animais infectados com *Eimeria zuernii* e não tratados apresentaram anemia normocítica normocrômica nos primeiros dias de eliminação de oocistos, devido a perda de sangue pelas fezes. O grupo tratado não apresentou anemia em nenhum momento analisado. No leucograma foi observado aumento da contagem de eosinófilos e macrófagos no grupo controle. Contrariamente, no grupo tratado não foram observadas essas variações.

O grupo controle apresentou acidose metabólica compensada, caracterizada pela queda do pH sanguíneo abaixo dos limites fisiológicos, diminuição da concentração sérica de  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{PCO}_2$  e BE. O grupo tratado não apresentou acidose metabólica.

As concentrações plasmáticas dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{++}$  reduziram durante o período de análise experimental no grupo controle, levando a quadros de hiponatremia e hipocalcemia. Por outro lado, o íon  $\text{K}^+$  apresentou aumento em sua concentração sérica no mesmo grupo, possivelmente devido a um quadro de hipercalcemia relativa. O grupo tratado não apresentou mudanças nas concentrações plasmáticas desses íons.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLBITRON, A.R.; SEGER, C.L. The transport of bile pigments in anaplasmosis. *Am. J. Vet. Res.*, n.23, p.1011-1018, 1962.
- ALLEN, P.C.; KUTLER, K.L. Effect of *Anaplasma marginale* infection upon blood gases and electrolytes in splenectomized calves. *J. Parasitol.*, v.67, n.6, p.954-956, 1981.
- ANGELOS, S.M.; VAN MESTRE, D.C. Treatment of sodium balance disorders: water intoxication and salt toxicity. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, v.15, n.3, p.587-606, 1999.
- ARGENZIO, R.A.. Pathophysiology of Neonatal Calf Diarrhea. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, v.1, n.3, p.461-469, 1985.
- BANGOURA, B.; DAUGSCHIES, A. Influence of experimental *Eimeria zuernii* infection in calves on electrolyte concentrations, acid–base balance and blood gases. *Parasitol. Res.*, v.101, n.6, p.1637–1645, 2007a.
- BANGOURA, B.; DAUGSCHIES, A. Parasitological and clinical parameters of experimental *Eimeria zuernii* infection in calves and influence on weight gain and haemogram. *Parasitol. Res.*, v.100, n.6, p.1331 -1340, 2007b.
- BASTIANETTO, E. *Infecção por Eimeria sp. em búfalos jovens e avaliação de esquemas terapêuticos metafiláticos*. 2010. 57 f. Tese (doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- BEHRENDT, J. H.; CLAUSS, W.; ZAHNER, H. *et al.* Alternative mechanism of *Eimeria bovis* sporozoites to invade cells in vitro by breaching the plasma membrane. *J. Parasitol.* v.90, n.5, p.1163-1165, 2004.
- BEHRENDT, J.H.; HERMOSILLA, C.; HARDT, M. *et al.* PMN-mediated immune reactions against *Eimeria bovis*. *Vet Parasitol* v.151, n.2-4, p.97-109, 2008.

BERCHETOLD, J.. Intravenous fluid therapy of calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, v.15, n.3, p. 505-531, 1999.

BHATIA, B. B. *Parasites of river buffaloes* In: TULLOH, N.M.; HOLMES, J. H.G. Buffalo Production. Amsterdam: FAO, 1992, cap. 15, p. 309-310.

BIRGEL JÚNIOR, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J. et al. Valores de referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v.38, n.3, p.136-141, 2001.

BITTENCOURT, R.; COSTA, J.; LOBO, J.E.O. et al. Transfusão Consciente de Hemoderivados. Revisão Sistemática dos Fatores Indicativos do Gatilho para a Infusão dos Componentes Sanguíneos. *Rev Bras Anesthesiol.* v.62, n. 3, p.402-410, 2012.

BLAKE, D.P.; HESKETH, P.; ARCHER, A. et al. *Eimeria maxima*: the influence of host genotype on parasite reproduction as revealed by quantitative real-time PCR. *Int J Parasitol.* v.36, n.1, p.97-105, 2006.

BOHRMANN, R. Treatment with toltrazuril in natural outbreak of coccidiosis in calves. *Dtsh. Tierärztl. Wochenschr.*, v.98, n.9, p.343-345, 1991.

BOOKALLIL, M.J.. *pH of the blood: acid base balance*, 2008. Disponível em: <[http://www.usyd.edu.au/su/anaes/lectures/acidbase\\_mjb/frameversion.html](http://www.usyd.edu.au/su/anaes/lectures/acidbase_mjb/frameversion.html)>. Acesso em 20 fev. 2015.

BÜRGER H.J. *Eimeria*-Infektionen beim Rind. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* v.96, p.350-357, 1983.

BÜRGER, H.; FIEGE, N.; GAHR, A. et al. *Eimeria species of cattle*. In: ECKERT J, BRAUN R, SHIRLEY MW, COUDERT P (eds) Guidelines on techniques in coccidiosis research. Office for Publications of the European Communities, Luxemburg. 1995, pp 40–51.



BUSATO A.; LENTZE, T.; HOFER, D. *et al.* A case control study of potential enteric pathogens for calves raised in cow-calf herds. *J. Vet. Med. B* v.45, n.9, p. 519-528, 1998.

CANNON W. B. *The Wisdom of the Body*. NY: W. W. Norton, 1932.

CARLSON, G.P.. Fluid electrolyte and acid-base balance. In: KANECO, J.. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. London: Academic Press, 1997. p. 485-515.

CHIBUNDA, R. T. MUHAIRWA, A. P.; KAMBARAGE, D. M. *et al.* Eimeriosis in dairy cattle farms in Morogoro municipality of Tanzania. *Prev. Vet. Med.* v.31, n.3-4, p.191-197, 1997.

COELHO, L. C.V. *Anaplasmosse bovina: parâmetros clínicos e de patologia clínica em bezerros infectados Experimentalmente*. 2007. 65f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária. Belo Horizonte, Minas Gerais, MG.

COLES, E.H. *Veterinary Clinical Pathology* 4th Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1986.

CONLOGUE, G.; FOREYT, W. J.; AND WESCOTT, R. B. Bovine coccidiosis: protective effects of low-level infection and coccidiostat treatments in calves. *Am. J. Vet. Res.* v.45, n.5, p. 863–866, 1984.

CONSTABLE, P.D.. Clinical Assessment of acid-base status: strong ion difference theory. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, v.15, n.3, p. 447-472, 1999.

CORNELISSEN, A. W.; VERSTEGEN, R.; VAN DEN BRAND, H. *et al.* An observational study of *Eimeria* species in housed cattle on Dutch dairy farms. *Vet. Parasitol.* v. 56, n. 1-3, p. 7-16, 1995.

CUNNINGHAM, J.G. *Tratado de fisiologia veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 454p.

DABAK, M.; KARAPINAR, T.; GULACTI, I. *et al.* Hemorrhagic syndrome-like disease in calves with bovine viral diarrhea and mucosal disease complex. *J. Vet. Intern. Med.* v.21, 514-518, 2007.

DAUGSCHIES, A.; AKIMARU M.; BURGER H.J..Experimentelle *Eimeria bovis*-infektionen beim Kalb. *Parasitol. klin. Bef. Dtsch. Tier.* v.93, n.4, p.393-397, 1986

DAUGSCHIES, A., BOSE, R.; MARX, J. *et al.* Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts. *Vet. Parasitol.* v.103, n.4, p.299–308, 2002.

DAUGSCHIES, A.; IMAROM, S.; GANTE, M. *et al.* Prevalence of *Eimeria* spp. in sows at pigletproducing farms in Germany. *J. Vet. Med. B.* v.51, n.3, p.135-139, 2004.

DAUGSCHIES, A.; NAJDROWSKI, M. Eimeriosis in cattle: current understanding. *J Vet. Med. B.* v.52, n.10, p 417–427, 2005.

DEMINGNÉ, C. CHARTIER, F.; RÉMÉSY. Evidence off different types of acidosis associated with diarrhea in the neonatal calf. *Ann. Rech. Vet.*, n.11, p.267-272, 1980.

DIBARTOLA, S.P. *Fluid therapy in small animal practice.* 2.ed. Philadelphia: Saunders, 2000. 720p.

DINIZ, G.S. Controle da coccidiose: atualização técnica. Artigos Zoonews. Jun. 2004. Disponível em: <<http://www.zoonews.com.br/noticias2/noticia.php?idnoticia=38824>> Acessado em 17 Jan. 2015.

DINIZ, G.S.; BORSOI, A.; LOPES, J.M. *et al.* Salinomicina e semduramicina associadas em diferentes concentrações no controle da eimeriose em frangos de corte. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* v.18, n. 4, p. 53-58, 2009.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M.. *Rosenberger: Exame Clínico dos Bovinos*. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1993, 419p.

DRAGE, S.; WILKINSON, D.. Acid-base balance. *Pharmacology*, v.3, n.12, p.1-13, 2001.

DUPREEZ, J.H. Parameters for the determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v.67, p.263-271, 2000.

ENEMARK, H.L.; DAHL, J.; ENEMARK, J.M.D. Eimeriosis in Danish Dairy Calves - Correlation between Species, Oocyst Excretion and Diarrhoea. *Parasitol. Res.*, v.127, n. 1, p.169-176, 2013.

EPE, C.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G., WIRTHERLE, N. *et al.* Efficacy of toltrazuril as a metaphylactic and therapeutic treatment of coccidiosis in first-year grazing calves. *Parasitol. Res.* v.97, suppl. 1, p.S127–S133, 2005.

FABER, J. E.; KOLLMANN, D.; HEISE, A. *et al.* *Eimeria* infections in cows in the periparturient phase and their calves: oocyst excretion and levels of specific serum and colostrum antibodies. *Vet. Parasitol.* v.104, n.1, p.1–17, 2002.

FAGLIAR, J.J.; RIZOLLI, F. W; SILVA, S. L. *et al.* Proteinograma sérico de bezerras recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.3, p.450-453, 2006.

FERNANDO, M. A. *Eimeria: Infections of the intestine* In: LONG, P. L. *Coccidiosis of man and domestic animals*. 1993, 68p.

FERREIRA, A. J.; DELL'PORTO, A. *Agentes antiprotozoários*. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1999, p. 465-475.

FERREIRA, A. J. P. *Antiprotozoários*. In: Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária, 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 459-490.

FERREIRA, F.. *Fluidoterapia endovenosa e oral em bezerros com diarreia osmótica induzida*. 2001. 73f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia Veterinárias). Belo Horizonte: Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais.

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M.; SILVA, J.T.; *et al.* Desempenho e parâmetros sanguíneos de bezerros leiteiros que receberam sucedâneo lácteo ou silagem de colostro. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.5, p.1357-1366, 2013.

FIEGE, N.; KLATTE, D.; KOLLMANN, D. *et al.* *Eimeria bovis* in cattle: colostral transfer of antibodies and immune response to experimental infections. *Parasitol. Res.* v.78, n.1, p. 32–38, 1992.

FITZGERALD, P. R. The economic impact of coccidiosis in domestic animals. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, v. 24, p. 121-143, 1980.

FLORES, R.V.. *Soluções salinas hipertônicas e isotônicas na fluidoterapia de bezerros neonatos com desidratação induzida por diarreia osmótica: Estudo comparativo do perfil clínico, hematológico e bioquímico sérico e renal*. 2005. 148f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia Veterinárias). Belo Horizonte: Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais.

FOX, J.E. Coccidiosis in cattle. *Mod. Vet. Pract.*, v.66, p.113-116, 1985.

FREITAS, M.D. *Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais de bezerras com diarreia neonatal naturalmente adquirida*. 2009. 85f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária. Belo Horizonte, Minas Gerais, MG.

FRIEND, S.C.; STOCKDALE, P.H. Experimental *Eimeria bovis* infection in calves: a histopathological study. *Can. J. Comp. Med.* v. 44, n.2, p. 129-140, 1980.

GOMES, O. M.. *Interpretação clínicas das alterações ácido-básicas e distúrbio da oxigenação*. Belo Horizonte: Edictor, 1997, p.254.

GONZALES, E; *Apostila – Aditivos Para Rações de Aves e Suínos*. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ-UNESP Campus de Botucatu. Botucatu – SP, 2001.

GORDON, H. McL; WHITLOCK, A.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. *J Counc Sci Ind Res*, v. 12, n.1, p. 50-52, 1939.

GÓRNIAC, S. L. *Quimioterápicos* In: SPINOZA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan– RJ, 1996, p. 348-350.

GRÄFNER, G.; GRAUBMANN, H.D.; SCHWARTZ, K. et al. Further studies on the incidence, epidemiology and control of bovine *Eimeria* coccidiosis under intensive-rearing conditions. (Article in German) *Mh Vet Med* v.40, p.41-44, 1985.

GREGORY, *Pathology of coccidial infections* IN: Long, P. L. *Coccidiosis of man and domestic animals*. Cap 12, p.251, 1993.

GROTTO, H.Z.W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* v. 30, n.5, p. 390 – 397. 2008.

HANEY, Jr. M. E.; HOEHN, M. M. Monensin, a new biologically active compound. I. Discovery and isolation. *Antimicrob. Agents Chemother.* v.7 p. 349-352, 1967.

HARDER A.; HABERKORN, A. Possible mode of action of toltrazuril: studies on two *Eimeria* species and mammalian and *Ascaris suum* enzymes. *Parasitol. Res.*, v.76, n.1, p. 8-12, 1989.

HEISE, A.; PETERS, W.; ZAHNER, H. Phosphocholine epitopes in *Eimeria bovis*. *Exp. Parasitol.* v.92, n.4,p. 279–282, 1999.

HERMOSILLA, C.; BURGER, H.J.; ZAHNER, H. T cell responses in calves to a primary *Eimeria bovis* infection: phenotypical and functional changes. *Vet. Parasitol.* v.84, n.1-2, p. 49–64, 1999.

HIEPE, T.; ROMEYKE, D.; JUNGSMANN, R. Studies of coccidian infections in calves under intensive rearing conditions and recommendations for their control. (Article in German) *Mh Vet Med* v.33, n. 904- 910, 1978.

HOLST, H.; SVENSSON, C. Changes in the blood composition of calves during experimental and natural infections with *Eimeria alabamensis*. *Res. Vet. Sci.* v.57, n.3, p. 377–383, 1994.

JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4th ed. Lea and Febiger, 600. Washington square, Philadelphia, USA, 1986.

JOACHIM, A. Kokzidiose gibt es auch bei Kälbern. *DLZ Agrarmagazin* v..8, p.92–94, 2002.

JONSSON, N.; PIPER, E.K.; GRAY, C. P. *et al.* Efficacy of toltrazuril 5 % suspension against *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* in calves and observations on the associated immunopathology. *Parasitol. Res.* v.109, n. 1, p.113-128, 2011.

KASARI, T.R.. Metabolic acidosis in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* v.15, n.3, p. 473-482, 1999.

KOCHEVAR, D.T. Princípios de equilíbrio ácido - básico: terapia hídrica e eletrolítica. In: ADAMS, H.R. *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. Cap.25, p.417-444.

KOGUT, M. H. *Host specificity of the coccidian* In: LONG, P. L. Coccidiosis of man and domestic animals. 1993, 47p.

LEAL, M.L.R.; CYRILLO, F.C.; MORY, C.S. *et al.* Modelo de indução de diarreia osmótica em bezerros holandeses. *Ciênc. Ani.*, v.38, n.6, p.1650-1657, 2008.

LENTZE, T.; HOFER, D.; GOTTSTEIN, B. *et al.* Häufigkeit und Bedeutung von Endoparasiten bei Kälbern in Schweizer Mutterkuhbetrieben. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* v.106, p. 269–308, 1999.

LEVINE, N. D.; IVES, V. *Protozoan parasites of domesticated animals and of man.* Urbana. 2. ed. Univ. III Press. 1973, 406 p.

LEVINE, N. D. *Veterinary protozoology.* Ames, Iowa State University Press. 1985. 414p.

LORENZ, I.; FAGAN, J.; MORE, S.. Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Irish Vet. J.* v. 64, n.1, p.9-15, 2011.

MARSHALL, R. N.; CATCHPOLE, J.; GREEN, J.A. *et al.* Bovine coccidiosis in calves following turnout. *Vet. Rec.* v.143, n.13, p. 366-367, 1998.

MATJILA, P. T.; PENZHORN, B. L. Occurrence and diversity of bovine coccidia at three localities in South Africa. *Vet. Parasitol.* v. 104, n. 3, p. 93-102, 2002.

MENEZES R.C.A.A.; LOPES C.W.G. Epizootiologia da *Eimeria arloingi* em caprinos na microrregião serrana-fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. *Revta Univ. Rural, Ser. Ciênc. Vida*, v.17, n.2, p.5-12, 1995.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. *Medicina de laboratório veterinária – Interpretação e diagnóstico.* 1ª Ed. São Paulo: Roca LTDA, 1995, 308p.

MIELKE, D.; RUDNICK, J.; HIEPE, T. Untersuchungen zur Immunprophylaxe bei der Kokzidiose des Rindes. *Mh. Vet.-Med.* v.48, p.425–429, 1993.

MUNDT, H.C.; BANGOURA, B.; MENGEL, H. *et al.* Control of clinical coccidiosis of calves due to *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* with toltrazuril under field conditions. *Parasitol. Res.* v.97, n.1, p.134– 142. 2005a.

MUNDT, H, C.; BANGOURA, B.; RINKE, M. *et al.* Pathology and treatment of *Eimeria zuernii* coccidiosis in calves: Investigations in an infection model. *Parasitol. Int.* v.54, n.4, p. 223-230, 2005b.

MUNDT, H.C.; DAUGSCHIES, A.; UEBE, F. *et al.* Efficacy of toltrazuril against artificial infections with *Eimeria bovis* in calves. *Parasitol. Res.* v.90, n.3,p. S166–S167, 2003.

NAYLOR, A. Retrospective study of the relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. *Can. Vet. J.* v.30, n.9, p.577-580, 1989.

NAYLOR, J.M. *et al.* Advances in oral and intravenous fluid therapy of calves with gastrointestinal disease. In: WORD BUIATRICS CONGRESS, 24., 2006, Nice, Paris. *Anais....* Nice: Societé Française de Buiatrie, 2006. p.139-150.

NAYLOR, J.M.. Oral electrolyte therapy. *Vet Clin North Am Food Anim Pract..*, v.15, n.3, p. 487-504, 1999.

NAYLOR, J.M. Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *Can. Vet. J.*, v.18, n.4, p.168-173, 1987.

NOGUEIRA, V.A.; FRANÇA, T.N.; PEIXOTO, P.V. Intoxicação por antibióticos ionóforos em animais. *Pesq. Vet. Bras.* v.29, n.3, n.191-197, 2009.

PAES, P.R.O; LEME, F.O.P.; CARNEIRO, R.A. *Hematologia dos Animais Domésticos.* Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009, 119p.



PEIXOTO, A.P.C.; COSTA, J.N.; KOHAYAGAWA, A. *et al.* Hemograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bovinos da raça Holandesa preta e branca: influência dos fatores etários. *Rev.Bras. Saúde Prod. Anim.* v.3, n.1, p.16-20, 2002.

PILARCZYK, B.; BALICKA-RAMISZ, A.; PROST, M. The dynamics of *Eimeria* spp. infection in calves treated and untreated with Baycox. *Med. Weter.* v,55, n.8, p.523–526, 1999.

PLUMB, D. C.; PHARM, D. *Veterinary Drug Handbook, Estados Unidos da América*, Blackwell Publishing, 5. ed., 2005, p. 54-55.

RADOSTITTS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. *et al. Medicina Veterinária: Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos.* 9ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2002, 1737p. p. 1132-1136.

RAPAPORT, I.S. *Hematologia: Introdução.* São Paulo: Roca, 1990.

ROLAND, L.; DRILLICH, M.; IWERSEN, M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *J Vet Diagn Invest.* v.26, n. 5, p. 592-598, 2014.

ROSE, D.B.; POST, T.W.. *Clinical physiology of acid – base and electrolyte disorders*, 5ed., New York: Mcgraw – Hill, 2001. 992p.

SANTOS, G. G.F.; DESCHK, M.; SILVA, G.K.A. *et al.* Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos alimentados com colostro de vacas com mastite. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v.50, n.3, p.188-197, 2013.

SANTOS, R.L.; TSOLIS, R.M.; BAUMLER, A.J. *et al.* Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* se Typhimurium-infected calves. *Am. J. Vet. Res.* v.63, n.8, p.1145-1150, 2002.

SANTOS, T.G. Imunidade passiva colostrar em bovinos. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/passivacolostral.pdf>>. Acessado em 10 mar. 2015.

SANYAL, P.K.; RUPRAH, N.S.; CHHABRA, M.B. Chemotherapeutic efficacy of sulphadimidine, amprolium, halofuginone and chloroquine phosphate in experimental *Eimeria bareillyi* coccidiosis of buffaloes. *Vet. Parasitol.* v.17, n.2, p. 117–122, 1985.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, v. 52, n.3-4, p. 591-611, 1965.

SKOU, J.C. *The influence of some cations on the adenosine triphosphate from peripheral nerves* Biochim. Biophys. Acta 23. 1957. 394p.

SNOEP, J. J.; POTTERS, J.B. Coccidiosis causes diarrhea in calves in the pasture. Pasture coccidiosis caused by *Eimeria alabamensis* (in Dutch). *Tijdschr. Diergeneeskd.* v.129, n.5, p. 158–160, 2004.

STASCHEN, S.; MUNDT, H-C.; DAUGSCHIES, A. *Eimeria-zuernii*- Kokzidiose in einem Milchviehgrosbestand. *Proceedings of the DVG Section "Parasitologie und parasita" re Krankheiten*", 20–21 p.64, 2003.

STOCKDALE, P.H.G.; BAINBOROUGH, A.R.; BAILEY, C.B.; *et al.*, Some pathophysiological changes associated with infection of *Eimeria zuernii* in calves. *Can. J. Comp. Med.*, v.45, n.1, p 34–37, 1981.

SVENSSON, C. Excretion of *Eimeria alabamensis* oocysts in grazing calves and young stock. *J. Vet. Med. B.* v. 47, n.2, p.105–110, 2000.

SVENSSON, C.; HOOSHMAND-RAD, P.; PEHRSON, B. *et al.* Excretion of *Eimeria* oocysts in calves during their first three weeks after turn-out to pasture. *Acta Vet. Scand.* v.34, n.2, p.175–182, 1993.

SVENSSON, C., OLOFSSON H., UGGLA A.. Immunisation of calves against *Eimeria alabamensis* coccidiosis. *Appl. Parasitol.* v.37, n.3, p. 209-216, 1996.

SVENSSON, C.; UGGLA, A.; PEHRSON, B. *Eimeria alabamensis* infection as a cause of diarrhoea in calves at pasture. *Vet. Parasitol.* v.53, n.1-2, p.33–43, 1994.

SWEENEY, R.W.. Treatment of potassium balance disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, v.15, n.3, p. 609-617, 1999.

TASKER, J.B. Fluids, electrolytes and acid-base balance. In: KANEKO, J.J.; CORNELIUS, C.E. *Clinical Biochemistry of domestic animals* 2nd ed. New York: Academic Press, 1971, p.61-107.

TAUBERT, A.; BEHRENDT, J.H.; SÜHWOLD, A. *et al.* Monocyte- and macrophage-mediated immune reactions against *Eimeria bovis*. *Vet. Parasitol.* n.164, v.2-4, p.141-153, 2009.

TAYLOR, M.A.; CATCHPOLE, J. Coccidiosis of domestic ruminants. *Appl. Parasitol.*, v.35, n.2, p.73-86, 1994.

TEMPERATURAS diárias (máxima, média, mínima)- Estação Belo Horizonte (MG) 12/2013. 2013. Disponível em <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/graficos>>. Acessado em 19 abr. 2015.

TEMPERATURAS diárias (máxima, média, mínima)- Estação Belo Horizonte (MG) 01/2014. 2014a. Disponível em <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/graficos>>. Acessado em 19 abr. 2015.

TEMPERATURAS diárias (máxima, média, mínima)- Estação Belo Horizonte (MG) 02/2014. 2014b. Disponível em <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/graficos>>. Acessado em 19 abr. 2015.

TENNANT, B.; HARROLD, D.; REINA-GUERRA, M.. Physiologic and metabolic factors in the pathogenesis of neonatal enteric infections in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, n.161, v.9, p.993-1007, 1972.

THRALL, A.M. *Veterinary Hematology and Chemical Chemistry* 1st Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, 518p., p.301- 328.

TIETZ, N.W.; PRUDEN, E.L.; ANDERSEN, O.S.. Blood Gases and pH. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 4th Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996, p.506-522.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 4.ed. JICA, 1998. 166p.

WALKER, P.G.; CONSTABLE P.D.; MORIN, D.E.; *et al.* Comparison of hypertonic saline-dextra solution and lactate Ringer's solution for resuscitation severity dehydrated calves with diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 213, n.1, p.113-121, 1998.

WANDURAGALA, Z.; RISTIC, M. Anaplasmosis. In: *Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals*. 1<sup>a</sup> Ed., New York: Pergamon Press Inc., 1993, 427p., p. 65-87.

WILLIAMS, W.J; BEUTLER, E.; ERSLEV, A.J. *et al.* *Hematology* 1st Ed. McGraw-Hill Book Company, 1972, 1479p.

WOOLUMS, A.R.; GUNTHER, R.A.; MCARTHUR-VAUGHAN, K. *et al.* Cytotoxic T lymphocyte activity and cytokine expression in calves vaccinated with formalin-inactivated bovine respiratory syncytial virus prior to challenge. *Comp. Immunol. Microb.* v.27, n.1, p.57-74, 2004.

ZANINE, A.M.; OLIVEIRA, J.S.; SANTOS, E.M. Importância, uso, mecanismo de ação e retorno econômico dos ionóforos na Nutrição de ruminantes. *Rev. Cient. Elet. Med.Vet.* v.3, n.6, 2006.