

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

**ESTRESSE OXIDATIVO EM PINTAINHOS INFECTADOS
EXPERIMENTALMENTE POR *Eimeria* spp.**

Luiz Gustavo Griss¹, Bruno Fernando Fortuoso¹, Gabriela Miotto Galli¹, Aleksandro Schafer da Silva¹

*autor para correspondência: gustavogriss@hotmail.com

¹Universidade Estadual do Estado de Santa Catarina, UDESC, Chapecó, Santa Catarina, Brasil

Abstract: Eimeriosis causes damage to the health of broiler chickens due to severe damage to the digestive system. This leads to a metabolic and biochemical imbalance, since it impairs the absorption of nutrients. This study had to evaluate if experimental infection by five species of the genus *Eimeria* causes oxidative stress in chicks. Thirty chicks were divided into two groups, infected and control group, with an experimental period of 15 days. Fecal collections, blood and small intestine fragments were performed at days 5, 10 and 15 of the experiment. In the stool samples, oocyst counts of the parasite were evaluated, oocysts were observed on days 10 and 15 post-infection, period of which intestinal lesions caused by the parasite were identified. Levels of oxygen reactive species and catalase activity were higher in infected animals ($P < 0.05$). On the other hand, superoxide dismutase activity decreased in the serum of these animals. Therefore, we can conclude that chicks infected by *Eimeria* spp showed an oxidative/antioxidant imbalance that is characteristic of oxidative stress.

Palavras-chave: Coccidiose, Parasitologia, Equilíbrio, Antioxidantes, Enzimas.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

No atual cenário da avicultura os custos de produção são elevados, e, portanto, se não planejado pode reduzir totalmente o lucro final da atividade (Ritzi et al, 2016). Hoje, trabalhamos com a finalidade de reduzir as perdas causadas por agentes patogênicos, como a coccidiose aviária, que é causada por diferentes espécies de *Eimeria* spp. responsáveis por afetar negativamente o desempenho, gerando prejuízos financeiros. A *Eimeria* spp. é um parasito dos intestinos delgado e grosso das aves, ao se instalar, a *Eimeria* spp invade as células absortivas, onde multiplica-se. Tanto a entrada do parasito nas células como a saída causa danos ao epitélio intestinal, o que gera uma menor absorção dos nutrientes, assim como afeta o crescimento do frango (Kiteessa et al, 2014). Atualmente sabe-se que o estresse oxidativo tem participação direta e indireta na patogenia de muitas doenças infecciosas, muitas vezes contribuindo negativamente para o agravamento da doença e lesões. Nossa hipótese é que as lesões intestinais causadas pela eimeria devem exacerbar o desequilíbrio entre níveis oxidantes e antioxidantes nos frangos e afetar crescimento. Portanto o objetivo do presente estudo é avaliar se infecção experimental por cinco espécies do gênero *Eimeria* causa estresse oxidativo em pintainhos.

Material e Métodos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animal na Pesquisa (CEUA - UDESC, número de protocolo: 3096260917. Quarenta pintinhos da Linhagem Cobb 500 de um dia de vida foram utilizados neste experimento, sendo os mesmos divididos em dois grupos de 20 pintinhos cada de forma aleatória, caracterizando um delineamento experimental inteiramente casualizado. As aves foram mantidas sobre cama de maravalha em um ambiente controlado e climatizado. As rações fornecidas aos dois grupos eram idênticas, seguindo as exigências contidas nas tabelas brasileiras para aves. O delineamento experimental

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

foi feito da seguinte forma: Grupo Controle, animais não infectados com oocistos de *Eimeria* spp; Grupo Infectado, pintinhos inoculados pela via oral com 35.000 oocistos de diferentes espécies de *Eimeria* spp. (*E. acervulina* = 8.000 oocistos; *E. praecox* = 8.000; *E. maxima* = 4.000; *E. mitis* = 10.000; *E. tenella* = 5.000) no segundo dia de vida dos animais. O período experimental foi de 15 dias, o fornecimento de água e ração foi *ad libitum*. Houve coleta de excretas nos dias 5, 10 e 15 de experimento para pesquisa de oocistos de *Eimeria* spp. através da técnica de centrifugo-flutuação usando solução saturada de açúcar. Também nos dias 5, 10 e 15 foi feita coleta de sangue e fragmentos de intestino.

Avaliamos a atividade de enzimas antioxidantes no sangue total, como a catalase (CAT) resultados expressos em $\eta\text{moL H}_2\text{O}_2/\text{mL}$, superóxido-dismutase (SOD) resultados expressos em $\eta\text{moL H}_2\text{O}_2/\text{mL}$, e no soro avaliamos os níveis de espécies reativas ao oxigênio (EROs), resultados expressos em DCF/mg de proteína. As metodologias usadas para CAT, SOD e EROs estão descritas detalhadamente por Ritter et al. (2017). Amostras do intestino (jejuno, íleo, ceco) foram coletadas e conservadas em solução de formaldeído a 10%, seguida da confecção de lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE). Os dados não apresentaram distribuição normal, portanto, optou-se por utilizar um teste não-paramétrico (Kruskal-Wallis). Os resultados foram apresentados em média e desvio padrão ($P < 0.05$).

Resultados e Discussão

No dia 5, não foi observado excreção de oocisto de *Eimeria* spp em ambos os grupos. O grupo controle manteve-se negativo nos dias 10 e 15 pós infecção, ao contrário do grupo infectado, no qual o número de oocistos por grama de fezes nesses períodos foi de 800 ± 421 e 1736 ± 838 , respectivamente. Não foram constadas lesões na mucosa intestinal dos pintos de ambos os grupos aos 5 dias de experimento, porém, nas vilosidades intestinais das aves do grupo infectado foi

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

constada a presença do parasito de modo leve a moderado e moderado a severo nos dias 10 e 15 do experimento, respectivamente.

Os níveis de EROs não diferiram no dia 5 (controle: 30 ± 12 ; infectado: 27 ± 11), mas nota-se uma redução ($P < 0,05$) no dia 10 nas aves infectadas (20 ± 3) comparado ao controle (30 ± 10), já aos 15 dias houve um aumento ($P < 0,01$) nos níveis de EROs nas aves infectadas ($42 \text{ U DCF/mg protein}$) comparada ao controle ($30,6 \pm 6$). A redução de EROs não saberíamos explicar a causa, mas acreditamos que pode estar relacionado a migração de EROs para o intestino, com finalidade de combater o parasito. Já o aumento dos níveis de EROs no dia 15 está relacionado as lesões celulares e teciduais causadas pelo parasito no intestino (Ritter et al, 2017).

A atividade da CAT não diferiu entre grupos nos dias 5 (controle: $3,6 \pm 1$; Infectado: $3,11 \pm 1,6$) e 10 (controle: $2,8 \pm 0,7$; Infectado: $3,7 \pm 0,8$), porém, aos 15 dias os animais infectados ($12,5 \pm 3$) tiveram um aumento da atividade CAT ($P < 0,01$) quando comparado ao controle ($5,6 \pm 2$). Esse aumento na enzima CAT é uma resposta do organismo ao aumento de radicais livres causado pela presença do parasito no intestino animal, assim como lesões causadas pela infecção. De acordo com a literatura, a mesma é uma das principais enzimas atuantes na eliminação do H_2O_2 gerado durante a fotorrespiração, que tem produção exacerbada em situações anormais (Halliwell e Whitman, 2004), nesse caso, a coccidiose aviária. Aos 5 dias de vida observamos a atividade da SOD inferior ($P < 0,05$) nos animais infectados ($2,61 \pm 0,9$) comparado ao controle ($4,6 \pm 1,2$). No dia 10 dia não houve diferença entre grupos (controle: $4,28 \pm 1,26$; Infectado: $3,13 \pm 0,8$). Aos 15 dias de experimento, a SOD também teve sua atividade inferior ($P < 0,01$) nos pintinhos infectados ($2,72 \pm 0,7$) comparado ao controle ($4,44 \pm 0,8$). O motivo da redução dessa enzima não está claro, mas é sabido que essa inibição tem efeitos negativos a saúde dos animais. Pois a SOD catalisa a dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

de hidrogênio, sendo assim uma importante defesa antioxidante na maioria das células expostas aos radicais de oxigênio (Catania et al, 2009).

Conclusão

Concluimos que ocorre um desequilíbrio nos níveis de oxidantes e antioxidantes nos pintainhos infectados com *Eimeria* spp, compatível com estresse oxidativo.

Referências

- CATANIA, A.S.; BARROS, R.C.; FERREIRA, S.R.G. Vitamins and minerals with properties and cardiometabolic risk: controversies and perspectives. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, 53, 550-559, 2009.
- HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean. **British Journal of Pharmacology**, 142, 231-255. 2004.
- MIRANDA, M.R.; ABDELRAHMAN, W.; VAN-HEERDEN, K.; MOHNL, M.; BARRETT, N.W.; DALLOUL, R.A. Combination of probiotics and coccidiosis vaccine enhances protection against an *Eimeria* challenge. **Veterinary Research**, 47, 111-119, 2016.
- NELSON, D.P.; KIESOW, L.A. Entalpy of the composition of hydrogen peroxide by catalase at **Analytical Biochemistry**, 49, 474-479, 1972.
- RITTER, C.S.; BALDISSERA, M.D.; GRANDO, T.H. SOUZA, C.F.; SAGRILLO, M.R.; DA SILVA, A.P.; MORESCO, R.N.; GUARDA, N.S.; DA SILVA, A.S.; STEFANI, L.M.; MONTEIRO, S.G. Achyrocline satureioides essential oil-loaded in nanocapsules reduces cytotoxic damage in liver of rats infected by *Trypanosoma evansi*. **Microbial Pathogenesis**, 103, 149–154, 2017.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

