

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE BEZERROS BUBALINOS
NO PERÍODO NEONATAL**

Damazio Campos de Souza

Médico Veterinário

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE BEZERROS BUBALINOS
NO PERÍODO NEONATAL**

Damazio Campos de Souza

Orientador: Prof. Dr. José Jurandir Fagliari

Coorientadores: Prof. Dr. Rinaldo Batista Viana

Dra. Daniela Gomes da Silva

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária)

2016

S729p Souza, Damazio Campos de
Perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos no período neonatal
/ Damazio Campos de Souza. -- Jaboticabal, 2016
vi, 33 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: José Jurandir Fagliari
Coorientadora: Daniela Gomes da Silva
Coorientador: Rinaldo Batista Viana
Banca examinadora: Annelise Carla Camplesi dos Santos,
Raimundo Souza Lopes
Bibliografia

1. *Bubalus bubalis*. 2. Neonato. 3. Transferência de Imunidade
Passiva (TIP). I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias
e Veterinárias.

CDU 619:577.1:636.293.2



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE BEZERROS BUBALINOS NO PERÍODO NEONATAL

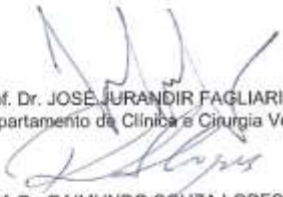
AUTOR: DAMAZIO CAMPOS DE SOUZA

ORIENTADOR: JOSÉ JURANDIR FAGLIARI

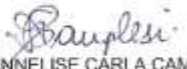
COORIENTADORA: DANIELA GOMES DA SILVA

COORIENTADOR: RINALDO BATISTA VIANA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MEDICINA VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOSÉ JURANDIR FAGLIARI
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. RAIMUNDO SOUZA LOPES
Departamento de Clínica Veterinária / FMVZ / UNESP - Botucatu/SP


Profa. Dra. ANNELISE CARLA CAMPLESI DOS SANTOS
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV/UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 29 de fevereiro de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DAMAZIO CAMPOS DE SOUZA, nascido em 7 de março de 1990, em Belém, Pará, Brasil. Filho de Solange Maria Cavalcante Campos e José Aparecido de Souza. Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, em março de 2014. Durante o período da graduação foi bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET) do curso de Medicina Veterinária de setembro de 2009 até março de 2014. Ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária), em março de 2014, sob orientação do Prof. Dr. José Jurandir Fagliari, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus Jaboticabal, com bolsa de estudo da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Processo: 2014/09246-5.

*Se eu conversasse com Deus
Iria lhe perguntar:
Por que é que sofremos tanto
Quando viemos pra cá?
Que dívida é essa
Que a gente tem que morrer pra pagar?
Perguntaria também
Como é que ele é feito
Que não dorme, que não come
E assim vive satisfeito.
Por que foi que ele não fez
A gente do mesmo jeito?
Por que existem uns felizes
E outros que sofrem tanto?
Nascemos do mesmo jeito,
Moramos no mesmo canto.
Quem foi temperar o choro
E acabou salgando o pranto?
Leandro Gomes de Barros*

Dedico este trabalho às memórias do meu avô Nicolino de Castro Campos e do meu pai José Aparecido de Souza, as duas figuras paternas que me fizeram hoje o homem que sou. A saudade passa, mas as lembranças e os ensinamentos ficam para sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à minha Nossa Senhora, pela força, acalento, sentido e motivação, pois sem eles não teria a chance de estar aqui podendo construir minha existência.

À minha mãe, Solange Maria Cavalcante Campos, meu bastião, meu ponto de sustentação, meu ponto de saída e meu ponto de retorno. Pelos ensinamentos e pela sabedoria que construíram minha personalidade. Se eu tenho um norte na minha vida é graças a ela.

Ao meu pai, José Aparecido de Souza, um homem trabalhador, representante do brasileiro, que lutou durante a vida toda, destemido, e que nunca deixou de perseguir seus sonhos, não obstante onde ou o que tivesse que enfrentar. Se hoje eu não tenho medo é graças ao senhor Pai.

À minha avó, Juraci Cavalcante Campos, mãe de dezenas de filhos, netos e bisnetos, ponto central da nossa família. Pelas palavras, orações, carinho, e por ser aquela que representa o verdadeiro amor materno.

Ao meu avô, Nicolino de Castro Campos, o professor, aquele que desde pequeno me ensinou a importância do conhecimento, da curiosidade, da busca, da inquietação e ansiedade daqueles que não se contentam com pouco. Esse é o segundo passo em direção ao caminho que o senhor me mostrou, muito obrigado.

À minha irmã, Camila Campos de Souza, amiga, companheira e sempre paciente, muito obrigado pelo amor ao longo dos anos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Jurandir Fagliari, pela orientação, ensinamentos, por todos os conselhos, apoio e pela confiança depositada.

À FAPESP, pela ajuda financeira para o desenvolvimento desta dissertação por meio de Bolsa de Mestrado.

À Dra. Daniela Gomes da Silva, pela orientação e dedicação do início ao fim do trabalho. E aos conselhos e ensinamentos compartilhados ao longo do período de estudo.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Batista Viana que me deu a primeira oportunidade de trabalho, quem me trouxe ao mundo da Buiatria, e quem me apresentou a bubalinocultura, pelos seus ensinamentos e dedicação ao ensino estou aqui hoje como um profissional.

Ao Dr. Otávio Bernardes, pela permissão de trabalhar na fazenda em que eu sonhei desde a graduação, mas principalmente pelos ensinamentos e pela confiança depositada para realização de estudo em período tão longo. A bubalinocultura brasileira só existe graças a pessoas assim que dedicam anos de suas vidas à tão magnífica espécie.

Ao Dr. Osmar Bernardes, pela ajuda inestimável em todos os momentos de necessidade, pela confiança no trabalho realizado, pelas palavras de apoio e pela chance de aprender um pouco do vasto conhecimento e sabedoria acumulados ao longo dos anos.

À Eneida Bernardes, pela recepção, amabilidade e atenção dispendidas ao longo do período de estudo, que foram essenciais para que o trabalho se concretizasse.

À Dra. Thaís Gomes Rocha, pela passagem de experiência e ajuda nos momentos de análises laboratoriais.

Ao Prof. Dr. Estevam Lux Hoppe, pela realização dos exames parasitológicos e pelas orientações em relação ao controle parasitário dos animais do experimento, essencial para a higidez dos bezerros.

Aos técnicos e amigos do Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV - UNESP, Renata Lemos Nagib Jorge, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira e Paulo César da Silva, pela ajuda, paciência, e amizades construídas.

Às bolsistas de iniciação científica Letícia de Castro Fiori e Lana Cristine Coelho Fonseca pela participação no projeto.

Aos veterinários Gustavo Lara e Marina Migliano, pela ajuda, pelas informações do manejo e oportunidades de total integração com a fazenda.

Aos companheiros de trabalho na fazenda, José Augusto, Rodrigo, Izael, Marco, Jonathan e Antônio, pessoas que dedicam a vida à produção animal, pela amizade, companheirismo e por me tratarem como irmão.

Às crianças da fazenda, Richard, Lucas, Daniel, Kauanne, Mateus e Isaac. Pelo amor e carinho puros e verdadeiros que vêm da infância, muito obrigado por me fazerem sentir em casa apesar de quilômetros de distância, o tio ama vocês e nunca vai esquecer do que vocês me ensinaram.

Aos membros da Comissão Examinadora de Qualificação, Profa. Dra. Annelise Carla Camplesi dos Santos e Dr. André Marcos Santana, pelas correções e sugestões pertinentes que contribuíram sobremaneira com este trabalho.

Ao Prof. Dr. Gener Tadeu Pereira, por toda ajuda com a análise estatística deste experimento.

Ao Dr. Bruno Moura Monteiro, pela amizade e ensinamentos desde a graduação, pela ajuda e disponibilidade ao longo de todo experimento, um irmão que a universidade me deu e que é grande responsável pelo sucesso do experimento.

Aos meus estagiários, Feijão, Pitica e Rajada, que me acompanharam durante todo o período do experimento, pela companhia silenciosa e fiel que me seguia por toda fazenda desde o nascer ao pôr-do-sol, pelo pronto atendimento no chamado não importa em qual situação.

Aos búfalos utilizados no experimento, mães e bezerros, foi uma experiência única e reveladora acompanhar o crescimento desses animais diariamente, mesmo após centenas de quilos ganhos ainda eram os mesmos bezerros que eu carregava nas costas, que

corriam na porteira do piquete ao me verem chegar e que me colocavam como um deles quando compartilhavam as brincadeiras de corridas e cabeçadas.

A todos, muito obrigado.

SUMÁRIO

	Página
Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais.....	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	2
3. Referências.....	7
CAPÍTULO 2 – Perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos no período neonatal	
Resumo.....	12
Abstract.....	13
1. Introdução.....	14
2. Material e Métodos.....	15
3. Resultados e Discussão.....	17
4. Conclusão.....	30
5. Agradecimentos.....	30
6. Referências.....	31

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 010028/14 do trabalho de pesquisa intitulado **“Perfil bioquímico sérico, inclusive proteinograma com ênfase em proteínas de fase aguda e imunoglobulinas, de bezerros bubalinos neonatos”**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Jurandir Fagliari está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 06 de junho de 2014.

Jaboticabal, 06 de junho de 2014.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – Perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos no período neonatal

Página

Tabela 1. Média $\pm$ desvio-padrão das atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), gamaglutamiltransferase (GGT), e fosfatase alcalina (ALP) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.....18

Tabela 2. Resultados de estudos prévios das atividades séricas de gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP) e das concentrações séricas de proteína total e imunoglobulina G (IgG) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (0h), às 24h e às 48h.....21

Tabela 3. Média $\pm$ desvio-padrão das concentrações séricas de proteína total, albumina globulinas e imunoglobulina G (IgG) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.....23

Tabela 4. Média $\pm$ desvio-padrão das concentrações séricas de cálcio total, ferro, fósforo, sódio (Na), potássio (K) e cálcio ionizado (Ca²⁺) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.....27

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 – Perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos no período neonatal

Página

Figura 1. Valores médios das atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), gamaglutamiltransferase (GGT), e fosfatase alcalina (ALP) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.....19

Figura 2. Valores médios das médias das concentrações séricas de proteína total, albumina globulinas e imunoglobulina G (IgG) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.....24

Figura 3. Valores médios das concentrações séricas de cálcio total, ferro, fósforo, sódio (Na), potássio (K) e cálcio ionizado (Cai) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.....28

PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE BEZERROS BUBALINOS NO PERÍODO NEONATAL

RESUMO – A determinação do perfil bioquímico sérico é uma excelente ferramenta para identificar eventuais alterações fisiológicas pertinentes à saúde e ao bem-estar do bezerro, sobretudo no período neonatal. Deste modo objetivou-se com o presente estudo avaliar o perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos sadios no período neonatal. Foram examinadas amostras de soro sanguíneo de 50 animais da raça Murrah oriundos de fazenda produtora de leite situada no município de Alambari - SP. Os animais foram distribuídos em três grupos experimentais, de acordo com o número de parições de suas mães, sendo 15 bezerros filhos de búfalas primíparas (G1), 19 bezerros filhos de búfalas múltiparas com duas a quatro parições (G2) e 16 bezerros filhos de búfalas múltiparas com cinco a 14 parições (G3). As colheitas de amostras de sangue venoso foram realizadas nos seguintes momentos: ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2) e 72h após o nascimento (M3) e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 dias de idade (M7), para determinação das atividades séricas das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP), aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (CK) e das concentrações séricas de proteína total, albumina, globulinas, ferro, cálcio total, cálcio ionizado, fósforo, sódio e potássio. As concentrações séricas de imunoglobulina G (IgG), foram determinadas pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), usando o teste de Tukey para comparação entre as médias, a significância foi verificada a 5% de probabilidade. O fator etário influenciou todos os parâmetros bioquímicos estudados, com exceção das concentrações séricas de cálcio ionizado e de potássio somente nos bezerros dos grupos G1 e G3. A ordem de parições das búfalas influenciou as atividades séricas de AST e GGT e as concentrações séricas de proteína total, albumina, globulinas e IgG dos bezerros bubalinos. A atividade sérica elevada de ALP nos dois primeiros dias após o nascimento indica a possível utilização desse parâmetro como método indireto de avaliação da transferência de imunidade passiva (TIP). As concentrações de ferro sérico dos bezerros bubalinos apresentaram valores elevados, contraindicando-se a suplementação do ferro na espécie na fase neonatal.

Palavras-chave: *Bubalus bubalis*, Murrah, neonato, transferência de imunidade passiva (TIP)

SERUM BIOCHEMICAL PROFILE OF BUFFALO CALVES IN NEONATAL PERIOD

ABSTRACT - The serum biochemical profile is an excellent tool to identify any relevant physiological changes to health and calf welfare, especially in the neonatal period. This study aimed to evaluate serum biochemical profile of healthy buffalo calves in the neonatal period. Serum samples from 50 Murrah animals from a milk farm in the city of Alambari – SP were examined. The animals were divided into three groups according to the number of parities of their mothers, 15 calves born from primiparous buffaloes (G1), 19 calves born from multiparous buffaloes with two to four parities (G2) and 16 calves from multiparous buffaloes with five to 14 parities (G3). The venous blood samples were taken at the following times: at birth, before the ingestion of colostrum (M0) at 24h (M1), 48h (M2) and 72h after birth (M3) and 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) and 30 days of age (M7) for determination of serum activities of gamma glutamyl transferase enzymes (GGT), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), and serum concentrations of total protein, albumin, globulin, iron, total calcium, ionized calcium, phosphorus, sodium, potassium. Serum concentrations of immunoglobulin G (IgG) were determined by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The results were evaluated by analysis of variance (ANOVA) using the Tukey's test to compare means, significance was observed at 5% probability. The age factor influenced all biochemical parameters, except for ionized calcium and potassium concentrations only from calves of G1 and G3 groups. The calving order of buffalo influenced AST, GGT, serum total protein, albumin, globulin and IgG of buffalo calves. The high serum ALP activity in the first two days after birth indicates the possible use of this parameter as an indirect method of assessing the passive immunity transfer. The iron serum concentrations of buffalo calves showed high values, the supplementation of this mineral is contraindicated in buffalo calves on the neonatal period.

Keywords: *Bubalus bubalis*, Murrah, newborn, passive immunity transfer (PIT)

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

O búfalo (*Bubalus bubalis*) é um animal de grande importância econômica, com destaque para a produção de leite, carne e couro. Estima-se que a população mundial desta espécie animal seja de mais de 198 milhões de búfalos (FAO, 2015). O leite de búfala é o segundo leite mais consumido no mundo; a produção anual é de aproximadamente 101 bilhões de litros, o equivalente a 13% da produção mundial de leite (IDF, 2013).

O Brasil possui mais de 1,31 milhões de bubalinos (IBGE, 2015) e, conforme a Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos (ABCB), existe um aumento na demanda pela procura de produtos derivados do leite de búfala, como a mozzarella que apresenta crescimento de quase 20% ao ano (ANUÁRIO BRASILEIRO DA PECUÁRIA, 2014). Estima-se que, em 2011, a produção nacional foi de 156 milhões de litros, produzidas por cerca de 130 mil búfalas oriundas de 3 mil rebanhos leiteiros (BERNARDES, 2013).

Um dos pontos críticos na produção de bubalinos é o período neonatal, com altas taxas de mortalidade que variam de 17 a 36% em animais da raça Murrah (PARDHAN; PANDA, 1994; SHIVAHRE et al., 2014). Isso se torna relevante, pois uma taxa de 20% de mortalidade neonatal resulta em redução de 38% no lucro de uma fazenda (RADOSTITS et al., 2007).

Em todas as espécies o período neonatal representa um momento crítico onde todos os órgãos devem se adaptar à vida extrauterina, uma difícil transição da proteção intrauterina para a desproteção da vida no meio ambiente (PICCIONE et al., 2009). O conhecimento dos valores normais dos parâmetros bioquímicos séricos é importante na avaliação de danos aos órgãos e tecidos em diferentes afecções e na avaliação do bem-estar animal. Permite monitorar a situação metabólica dos tecidos animais, transtornos no funcionamento dos órgãos e a adaptação do organismo frente às alterações nutricionais e fisiológicas.

Fatores como: espécie, raça, idade, sistema de criação, alimentação, número de parições entre outros, influenciam os resultados da bioquímica sérica, e a identificação desses fatores permite uma correta interpretação dos resultados (KLINKON; JEZEK, 2012). Na espécie bubalina os dados disponíveis são escassos, fazendo-se necessária a utilização de valores bioquímicos séricos de bovinos, o que pode levar a considerações erradas, principalmente quando estes parâmetros são usados para analisar animais na primeira semana de idade (PÉREZ-SANTOS et al., 2015).

Desta forma objetivou-se determinar as atividades séricas das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP), aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (CK) e as concentrações séricas de albumina, globulinas, proteína total, ferro, cálcio total, cálcio ionizado, fósforo, sódio e potássio e o IgG em bezerros bubalinos neonatos da raça Murrah no período neonatal.

2. Revisão de Literatura

O colostro é uma coleção de material biológico: células imunes, citocinas e imunoglobulinas, além de proteínas lipídios e carboidratos, que fornecem ao neonato o aparato necessário para sobreviver ao período de adaptação que ocorre após a passagem do ambiente uterino para o ambiente externo, onde o bezerro começa a ser desafiado. A via pela qual os anticorpos maternos alcançam o feto é determinada pela estrutura da placenta.

Nos ruminantes a placentação é do tipo sindesmocorial, em que o epitélio coriônico tem contato direto com os tecidos uterinos, ocorre assim o impedimento da passagem transplacentária das moléculas de imunoglobulinas, assim, os recém-nascidos dessas espécies são completamente dependentes dos anticorpos recebidos via colostro (TIZARD, 2009). Desta forma, os ruminantes nascem agamaglobulinêmicos (BOYD, 1989) ou marcadamente hipogamaglobulinêmicos (HUSBAND; BRANDON; LASCELLES, 1972; FAGLIARI et al., 1986; BESSER; OSBORN, 1993).

A colostrogênese é a passagem de imunoglobulinas da circulação sanguínea para o tecido glandular mamário das fêmeas. Em fêmeas de ruminantes domésticos, esta transferência inicia-se várias semanas antes do parto e cessa abruptamente pouco antes do parto (BARRINGTON; PARISH, 2001).

A IgG1 representa mais de 85% do total de imunoglobulinas do colostro, mas há também quantidades relevantes de IgM e IgA. A maior concentração de IgG1 decorre da presença de receptores ativos e seletivos no epitélio da glândula mamária. Já a passagem de outras classes de imunoglobulinas provavelmente não é seletiva, por isso sua menor concentração no colostro (RADOSTITS et al., 2007).

Deve-se reconhecer que, embora os animais lactentes adquiram considerável proteção aos patógenos ambientais por meio das imunoglobulinas do colostro, nem toda a proteção deve ser atribuída a elas ou a outros componentes de imunidade específica.

A transferência de imunoglobulinas da circulação materna para a glândula mamária envolve um processo ativo enquanto que a absorção pelo neonato não é seletiva para tipos específicos de imunoglobulinas; nos bezerros recém-nascidos as atividades proteolíticas no trato digestório ainda são muito baixas, sendo reduzidas ainda mais pela atividade de inibidores da tripsina no colostro. Deste modo, as proteínas não são degradadas e atingem, intactas, o intestino delgado, onde se ligam a receptores presentes nas células epiteliais intestinais (FcRn), sendo endocitadas e ganham a circulação sanguínea (TIZARD, 2009).

O tempo de permeabilidade intestinal às imunoglobulinas começa a declinar seis horas após o nascimento, provavelmente em substituição das células epiteliais intestinais que expressam FcRn por outras que não expressam esses receptores (TIZARD, 2009).

A concentração sérica máxima de imunoglobulinas é verificada por volta de 12 a 24 horas após o nascimento, em todas as espécies (BARRINGTON; PARISH, 2001; RADOSTITS et al., 2007). A importância e a influência do tempo de atraso entre o nascimento e a primeira mamada de colostro no grau de imunidade passiva adquirida em bezerros bovinos foram verificadas por

Edwards, Broom e Collis (1982) e servem de parâmetro para as práticas de manejo de recém-nascidos.

Em um experimento conduzido por Besser et al. (1985) relata-se correlação negativa significativa entre o conteúdo de imunoglobulinas administrado e a eficiência de absorção destas imunoglobulinas. Este resultado sugere que há uma limitação fisiológica na absorção de imunoglobulinas colostrais. A falha na transferência das imunoglobulinas presentes no colostro é o principal determinante de doença septicêmica em todas as espécies de mamíferos, modulando também a ocorrência de mortes e a gravidade de doenças entéricas e respiratórias na idade jovem e, em alguns casos, o desempenho em idades posteriores (BARRINGTON; GAY; EVERMANN, 2002).

A absorção de imunoglobulinas pelos bezerros bubalinos também está diretamente relacionada com o ganho de peso diário e o peso aos 30 dias de bezerros bubalinos criados junto com a mãe (MASTELLONE, 2011).

A taxa de falha na transferência de imunoglobulinas colostrais é alta, tanto em bezerros bovinos que mamam naturalmente quanto naqueles que recebem leite em mamadeira (RADOSTITS et al., 2007). No Brasil, as recomendações envolvendo o fornecimento de colostro a bezerros com o intuito de possibilitar adequada transferência de imunidade passiva seguem normas preconizadas para os rebanhos norte-americanos (SOARES FILHO et al., 2001).

Além disso, não há conhecimento adequado sobre a eficiência da transferência de imunidade passiva de imunoglobulinas colostrais em bubalinos.

Em geral, a transferência passiva das imunoglobulinas é normalmente conseguida pela amamentação natural. Este fato provavelmente se deve ao maior vigor dos bezerros ao nascimento e, possivelmente, pela maior concentração de imunoglobulinas no colostro das vacas no pré-parto imediato, o que possibilita a ingestão de menor volume para obter o conteúdo apropriado de anticorpos (TIZARD, 2009).

Vários métodos estão disponíveis para mensurar a concentração de imunoglobulinas no sangue de bezerros, após a absorção do colostro. A imunodifusão radial simples é o teste usualmente utilizado em pesquisas. Está disponível comercialmente e apesar do custo relativamente elevado, o

procedimento é simples e sensível para quantificar proteínas, particularmente imunoglobulinas (JAIN, 1993; RADOSTITS et al., 2007).

A proteína total é um parâmetro indireto, porém com correlação confiável, da quantidade de IgG (BORGES et al., 2001). Valores séricos acima de 4,2 g/dL têm alta sensibilidade e especificidade na detecção de falha na transferência passiva de imunoglobulinas. A afirmativa baseia-se no fato de que os teores de albumina do recém-nascido são pouco variáveis e que as diferenças nas concentrações proteicas se devem quase que exclusivamente à absorção de imunoglobulinas após a ingestão do colostro (JAIN, 1993; FEITOSA et al., 2001; RADOSTITS et al., 2007), bem como possível influência genética (FAGLIARI et al., 2006). Contudo, em termos de rigor científico, a dosagem específica de IgG é a mais indicada. A mensuração de imunoglobulinas pode ser realizada por meio da técnica de SDS-PAGE, a mesma apresenta vantagens por permitir a identificação e a quantificação de IgG, considerada a mais importante na imunização passiva de bezerros, o que permite orientar o manejo de animais hipogamaglobulinêmicos (FAGLIARI et al., 2006).

As técnicas de eletroforese mais realizadas em Medicina Veterinária têm como matrizes fitas de acetato de celulose ou filmes de agarose. Essas técnicas permitem o fracionamento de apenas cinco a sete grupos de proteínas enquanto a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), permite identificação de até 20 a 30 bandas proteicas com pesos moleculares que variam entre 24 a 340 kDa. A eletroforese em gel de poliacrilamida é de fácil execução, baixo custo, necessita de micro quantidade de amostra e possibilita a visualização de concentrações proteicas extremamente baixas. Por meio desta técnica é possível a avaliação de diversas proteínas de fase aguda de interesse na Medicina Veterinária (ECKERSALL, 2008).

A mensuração da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase (GGT) também pode ser utilizada para a avaliação indireta da transferência da imunidade passiva em bezerros. A atividade da GGT é elevada no colostro de vacas e a sua atividade sérica em bezerros que mamaram ou foram alimentados com colostro é 60 a 160 vezes maior do que aquela verificada nas vacas,

havendo correlação significativa com a concentração sérica de IgG (FAGLIARI et al., 1996; RADOSTITS et al., 2007).

Imunodifusão radial e teste imunoenzimático (ELISA) são os únicos testes que mensuram diretamente a concentração sérica de IgG. Todos os outros estimam a concentração sérica de IgG com base no teor de proteína total.

Concentração sérica de IgG1 de 10 mg/mL, às 48 horas após o nascimento, pode ser utilizada como limite entre uma transferência de imunidade passiva adequada e sua falha (BARRINGTON; PARISH, 2001). Hancock (1985) acredita que certos fatores ambientais podem influenciar a concentração de IgG passivamente transferidas. Diferenças nas correlações entre imunidade passiva, morbidade, mortalidade e desempenho se devem principalmente à diversidade de sistemas de manejo e higiene das propriedades; estes fatores influenciam sobremaneira a ocorrência de infecção e, portanto, o risco de doenças na fase neonatal.

A concentração plasmática de proteínas é menor durante a vida fetal e aumenta gradativamente com o avanço da idade. A concentração plasmática de proteínas, inclusive de globulinas, aumenta rapidamente horas após o consumo de colostro devido à absorção intestinal de β -globulinas e γ -globulinas (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

A composição bioquímica do soro sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, transtornos no funcionamento dos órgãos, adaptação do organismo do animal frente alterações nutricionais e fisiológicas e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2002). O perfil bioquímico sérico permite avaliar o animal individualmente e no rebanho, indicando desequilíbrios metabólicos, nutricionais e alterações clínicas e inaparentes (PAYNE; PAYNE, 1987; ROSSATO, 2000).

Ao nascimento, os bezerros bovinos apresentam deficiência de ferro devido à baixa concentração desse mineral no colostro, ao rápido crescimento dos animais e à escassa reserva do mineral no organismo do recém-nascido. O teor de ferro no colostro diminui sensivelmente nas primeiras horas após o parto, fato que contribui com a diminuição significativa da concentração sérica de ferro, da contagem de hemácias e do teor de hemoglobina dos neonatos,

caracterizando um quadro de anemia ferropriva (FAGLIARI et al., 1998; RIZZOLI et al., 2006; FRANCIOSI, 2010). Na maior parte dos casos não há sinais físicos aparentes, mas é provável que tal condição influencie direta ou indiretamente o sistema imune dos recém-nascidos, pois o ferro participa de vários mecanismos de defesa contra microrganismos. Em bezerros bovinos, a anemia ferropriva cursa sem que se percebam sinais clínicos, sendo diagnosticada apenas com auxílio de exames laboratoriais (FAGLIARI et al., 2006; RIZZOLI et al., 2006; FRANCIOSI, 2010).

O metabolismo e a quantidade de proteínas no soro de bezerros neonatos podem sofrer influência de diversos fatores, entre os quais deve se destacar a mamada do colostro e a idade (LEAL et al., 2003). A albumina, principal proteína do sangue, é sintetizada no fígado e representa a maior fração das proteínas totais. Mantém a pressão oncótica do sangue, serve como fonte primária de aminoácidos de reserva para as proteínas tissulares, desintoxica e inativa compostos tóxicos e transporta ácidos graxos e alguns minerais (MORAIS et al., 2000). Baixo teor de albumina interfere sobremaneira nas funções orgânicas, uma vez que sua redução ocasiona queda da pressão osmótica sanguínea e pode causar ascite, geralmente quando sua concentração sérica é inferior a 20 g/L (ORTOLANI et al., 2002).

Dados científicos a respeito do perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos são escassos e o estabelecimento de tais valores para animais neonatos sadios é de grande importância para uma melhor compreensão da espécie e dos processos fisiológicos pertinentes a essa fase específica da produção.

3. Referências

ANUÁRIO BRASILEIRO DA PECUÁRIA. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2014. 66 p.

BARRINGTON, G. M.; PARISH, S. M. Bovine neonatal immunology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Maryland Heights, v. 17, n. 3, p. 463-476, 2001.

BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Maryland Heights, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.

BERNARDES, O. Produção de búfalas leiteiras. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 4., 2013, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2013. p. 279-316.

BESSER, T. E.; GARMEDIA, A. E.; MCGUIRE, T. C.; GAY, C. C. Effect of colostral immunoglobulin G1 and immunoglobulin M concentrations on immunoglobulin absorption in calves. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 68, n. 8, p. 2033-2037, 1985.

BESSER, T. W.; OSBORN, P. Effect of bovine serum albumin on passive transfer of immunoglobulin to newborn calves. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 37, n. 2/4, p. 321-327, 1993.

BORGES, A. S.; FEITOSA, F. L. F.; BENESI, F. J.; BIRGEL, E. H.; MENDES, L. C. N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 629-634, 2001.

BOYD, J. W. Serum enzyme changes in newborn calves fed colostrum. **Veterinary Clinical Pathology**, Hoboken, v. 18, n. 2, p. 47-51, 1989.

ECKERSALL, P.D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 6. ed., San Diego: Academic Press. 2008. Cap. 5, p. 117-155.

EDWARDS, S. A.; BROOM, D. M.; COLLIS, S. C. Factors affecting levels of passive immunity in dairy calves. **British Veterinary Journal**, London, v. 138, n. 3, p. 233-240, 1982.

FAGLIARI, J. J.; LUCAS, A.; FERREIRA NETO, J. M.; OLIVEIRA, J. A. Quadro seroproteico de bezerros submetidos a 3 sistemas e imunização contra paratifo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 38, n. 5, p. 665-683, 1986.

FAGLIARI, J. J.; OLIVEIRA, E. C.; PEGORER, M. F.; FERRANTE JÚNIOR, L. C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 2, p. 105-112, 1996.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore e Holandesa e de bubalinos da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.

FAGLIARI, J. J.; RIZOLLI, F. W.; SILVA, S. L.; SILVA, D. G. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 450-453, 2006.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT 2015. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor>. Acesso em: 19 ago. 2015.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; PERRI, S. H. V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 251-255, 2001.

FRANCIOSI, C. **Hemograma e perfil bioquímico de bezerros neonatos da raça Holandesa tratados com ferro suplementar**. 102 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2010.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). In: CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. **Anais...** Gramado: SBMV e SOVERGS, 2002. p. 5-17.

HANCOCK, D. D. Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 68, n. 1, p. 163-183, 1985.

HUSBAND, A. J.; BRANDON, M. R.; LASCELLES, A. K. Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, Adelaide, v. 50, n. 4, p. 491-498, 1972.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal, 2014. Efetivo dos rebanhos em 31.12 e variação anual, segundo as categorias - Brasil - 2013-2014**. 2015. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 6 nov. 2015.

IDF. **The World Dairy Situation 2013**. Bulletin nº. 470, 2013, 238 p.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 932 p.

KLINKON, M.; JEZEK, J. **Values of blood variable in calves. A bird's-eye view of veterinary medicine.** Intech. 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/a-bird-s-eye-view-of-veterinary-medicine/values-of-blood-variables-in-calves>>. Acesso em: 4 nov. 2015.

LEAL, M. L. R.; BENESI, F. J.; LISBÔA, J. A. N.; COELHO, C. S.; MIRANDOLA, R. M. S. Proteinograma sérico de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês pós-nascimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 138-145, 2003.

MASTELLONE, V.; MASSIMINI, G.; PERO, M. E.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; LOMBARDI, P.; BRITTI, D.; AVALLONE, L. Effects of passive transfer status in buffalo calves. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 24, n. 7, p. 952-956, 2011.

MORAIS, M. G.; RANGEL, J. M.; MADUREIRA, J. S.; SILVEIRA, A. C. Variação Sazonal da bioquímica clínica de vacas aneloradas sob pastejo contínuo de *Brachiara decumbens*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 2, p. 98-104, 2000.

ORTOLANI, E. L.; GONZÁLEZ, F. H. D.; BARROS, L.; CAMPOS, R. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina) In: CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. **Anais...** Gramado: UFRGS, 2002. p. 48.

PARDHAN, B.; PANDA, G.M. Calving pattern and mortality trends in Murrah buffaloes calves in Orisa. **Indian Journal of Animal Production and Management**, Hyderabad, v.10, n.4, p.143-146, 1994.

PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test.** Oxford: Oxford University Press, 1987. 150 p.

PÉREZ-SANTOS, M.; CASTILLO, C.; HERNÁNDEZ, J.; ABUELO, A. biochemical variables from Holstein-Friesian calves older than one week are comparable to those obtained from adult animals of stable metabolic status on the same farm. **Veterinary Clinical Pathology**, Madison, v. 44, n. 1, p. 145-151, 2015.

PICCIONE, G.; CASELLA, S.; GIANNETTO, C.; VAZZANA, I.; NIUTTA, P. P.; GIUDICE, E. Influences of age on profile of serum proteins in calf. **Acta Veterinaria**, Beograd, v. 59, n. 4, p. 413-422, 2009.

RADOSTITS, O. M.; GAY C. C.; HINCHCLIFF K. W.; CONSTABLE P. E. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.** 10. ed. London: W.B. Saunders, 2007, 2065 p.

RIZZOLI, F. W., FAGLIARI, J. J., SILVA, D. G., SILVA, S. L., JORGE, R. L. N. Proteinograma e teores séricos de cálcio, fósforo, magnésio e ferro de bezerras

recém-nascidos que mamaram colostro diretamente na vaca ou em mamadeira. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 198-202, 2006.

ROSSATO, W. L. **Condição metabólica no pós-parto em vacas leiteiras de um rebanho do Rio Grande do Sul. 2000.** 150 f. Dissertação (Mestrado em Patobiologia Aplicada) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

SHIVAHRE, P. R.; GUPTA, A. K.; PANMEI, A.; BHAKAT, M.; KUMAR, V.; DASH, S. K.; DASH, S.; UPADHYAY, A. Mortality pattern of Murrah buffalo males in an organised herd. **Veterinary World**, Gujarat, v. 7, n. 5, p. 356-359, 2014.

SOARES FILHO, P. M.; BELÉM, P. A. D.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; SALCEDO, J. H. P. Concentrações de imunoglobulinas G em colostro de vacas mestiças Holandês-Zebu. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1033-1037, 2001.

TIZARD, I. R. Immunity in the fetus and new born. In: _____. (Ed.). **Veterinary Immunology. An Introduction**. 8. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009, 574 p.

CAPÍTULO 2 – Perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos no período neonatal

Perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos no período neonatal

[Serum biochemical profile of bubaline calves in neonatal period]

D.C. Souza^{1*}, D.G. Silva¹, T.G. Rocha¹, B.M. Monteiro², L.C. Fiori¹, L.C.C. Fonseca¹,
R.B. Viana³, J.J. Fagliari¹

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Jaboticabal, SP

²Universidade de São Paulo, USP, SP

³Universidade Federal Rural da Amazônia, UFRA, Belém, PA.

*Autor para correspondência. E-mail: campos.damaziao@gmail.com

RESUMO

No período neonatal os ruminantes passam por diversos processos fisiológicos que impactam nos parâmetros bioquímicos utilizados na avaliação clínica. Assim, objetivou-se determinar o perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos no período neonatal. Foram examinadas amostras de soro sanguíneo de 50 animais da raça Murrah oriundos de fazenda produtora de leite. Os animais foram distribuídos em três grupos, de acordo com o número de parições de suas mães, sendo 15 bezerros filhos de búfalas primíparas (G1), 19 bezerros filhos de búfalas múltiparas com duas a quatro parições (G2) e 16 bezerros filhos de búfalas múltiparas com cinco a 14 parições (G3). As colheitas de amostras de sangue venoso foram realizadas nos seguintes momentos: ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2) e 72h após o nascimento (M3) e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 dias de idade (M7), para determinação das atividades séricas das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP), aspartato aminotransferase (AST) e creatina quinase (CK) e das concentrações séricas de proteína total, albumina, globulinas, imunoglobulina G (IgG), ferro, cálcio total, cálcio ionizado (Cai), fósforo, sódio (Na) e potássio (K). Os resultados foram avaliados por análise de variância, usando o teste de Tukey para comparação entre as médias, a significância foi

verificada a 5% de probabilidade. O fator etário influenciou todos os parâmetros, com exceção das concentrações de Cai e de K dos grupos G1 e G3. A ordem de partos influenciou as atividades séricas de AST e GGT e as concentrações séricas de proteína total, albumina, globulinas e IgG dos bezerros bubalinos. A atividade sérica elevada de ALP nos dois primeiros dias após o nascimento indica a possível utilização desse parâmetro como método indireto de avaliação da transferência de imunidade passiva. As concentrações de ferro sérico apresentaram valores elevados, contraindicando-se a suplementação desse mineral nessa fase.

Palavras-chave: *Bubalus bubalis*, neonato, número de parições, Murrah, imunidade passiva

ABSTRACT

In the neonatal period ruminants undergo various physiological changes that affect the serum biochemical parameters used in clinical evaluation. This study aimed to evaluate serum biochemical profile of healthy buffalo calves in the neonatal period. Serum blood samples from 50 Murrah animals from a milk farm were examined. The animals were divided into three groups according to the number of parities of their mothers, 15 calves born from primiparous buffaloes (G1), 19 calves born from multiparous buffaloes with two to four parities (G2) and 16 calves from multiparous buffaloes with five to 14 parities (G3). The venous blood samples were taken at the following times: at birth, before the ingestion of colostrum (M0), at 24h (M1), 48h (M2) and 72h after birth (M3) and 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) and 30 days of age (M7) for determination of serum activities of gamma glutamyl transferase enzymes (GGT), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK) and concentrations of serum total protein, albumin, globulin, immunoglobulin G (IgG), iron, total calcium, ionized calcium, phosphorus, sodium and potassium. The results were evaluated by analysis of variance (ANOVA) using the Tukey's test to compare means, significance was observed at 5% probability. The age factor influenced all biochemical parameters, except for ionized calcium and potassium concentrations from calves of G1 and G3 groups. The calving order of buffalo influenced AST, GGT, serum total protein, albumin, globulin and IgG of buffalo calves. The high serum ALP activity in the first two days after birth indicates the

possible use of this parameter as an indirect method of assessing the passive immunity transfer. The serum concentrations of iron showed high values, supplementation of this mineral is contraindicated on the neonatal period.

Keywords: *Bubalus bubalis*, newborn, number of parities, Murrah, passive immunity transfer (PIT)

INTRODUÇÃO

O búfalo (*Bubalus bubalis*) é um animal de grande importância econômica, estima-se que a população mundial de búfalos supera 198 milhões de animais (FAO, 2015). O Brasil possui mais de 1,31 milhões de bubalinos (IBGE, 2015) e, de acordo com Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos (ABCB), há uma crescente demanda por produtos derivados do leite de búfalas, como a *mozzarella* (Anuário Brasileiro da Pecuária, 2014).

Um dos pontos críticos na produção de bubalinos é o período neonatal, no qual constata-se altas taxas de mortalidade, de 17% a 36% em animais da raça Murrah (Pardhan e Panda, 1994; Shivahre *et al.*, 2014). Isso é relevante porque uma taxa de mortalidade neonatal de 20% resulta em redução de 38% no lucro de uma fazenda (Radostits *et al.*, 2007). Em todas as espécies animais, o período neonatal representa um momento crítico, no qual os órgãos devem se adaptar à vida extrauterina, uma difícil transição da proteção intrauterina para a desproteção da vida no meio ambiente (Piccione *et al.*, 2009).

O conhecimento dos valores normais dos parâmetros bioquímicos séricos é importante na avaliação de lesões a órgãos e tecidos ocasionadas por diversas afecções e na avaliação do bem-estar animal. Permite também monitorar a condição metabólica, as anormalidades funcionais dos órgãos e a adaptação do organismo frente às alterações nutricionais e fisiológicas. Fatores como espécie, raça, idade, sistema de criação, manejo alimentar, número de parições, entre outros, influenciam os resultados dos exames bioquímicos do soro sanguíneo e a identificação desses fatores permite uma correta interpretação dos resultados (Klinkon e Jezek, 2012).

Na espécie bubalina os dados disponíveis são escassos e isto faz com que se utilizem parâmetros obtidos para bovinos, muitas vezes de forma equivocada, podendo

induzir a interpretações incorretas dos dados, principalmente aqueles obtidos na primeira semana de vida que são afetados pelas mudanças relacionadas ao nascimento e pela ingestão de colostro (Pérez-Santos *et al.*, 2015). Portanto faz-se necessário o conhecimento sobre a bioquímica sérica de búfalos saudáveis de diferentes idades para posteriores comparações com possíveis processos patológicos e diferenciação dos fisiológicos. Desta forma, objetivou-se determinar o perfil bioquímico sérico de bezerros bubalinos da raça Murrah, observando-se a influência da idade e do número de parições das búfalas nos valores dos parâmetros avaliados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 50 bezerros bubalinos, machos e fêmeas sadios da raça Murrah, nascidos de partos eutócicos, de búfalas clinicamente sadias, pertencentes a uma propriedade localizada no município de Alambari, Estado de São Paulo. Os animais faziam parte de um rebanho criado em sistema semiextensivo, com controle individual e produção anual de 300.000 Kg de leite, com média de 79 animais em lactação e produção individual média de 2.765 Kg em 300 dias de lactação. Os umbigos dos bezerros eram tratados com solução de tintura de iodo 2% nos primeiros três dias de vida e estes permaneciam com as suas mães durante os cinco primeiros dias após o nascimento, recebendo o colostro materno; após este período eram alimentados com leite de um quarto mamário, não ordenhado, até o desmame, aos 90 dias de idade. Além da dieta láctea, os bezerros tinham acesso à pastagem de *Brachiaria* spp. e eram alimentados com ração composta de farelos de soja e de milho. A higidez dos bezerros utilizados no estudo era confirmada por meio de exame físico diário, como descrito por Dirksen *et al.* (1993).

Os bezerros utilizados no experimento foram distribuídos em três grupos experimentais, de acordo com o número de parições de suas mães, sendo 15 bezerros (dez fêmeas e cinco machos) filhos de novilhas búfalas (G1), 19 bezerros (sete fêmeas e 12 machos) filhos de vacas búfalas com uma a três parições prévias (G2) e 16 bezerros (seis fêmeas e 10 machos) filhos de vacas búfalas com mais de quatro parições prévias (G3).

As colheitas de amostras de sangue venoso foram realizadas nos seguintes momentos: ao nascimento, antes da ingestão de colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2) e 72h após o nascimento (M3) e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 dias de idade (M7). Foram colhidas amostras de 10 mL de sangue por meio de venopunção jugular, após

antisepsia local com álcool iodado, utilizando-se tubos de plástico siliconizados, com vácuo e sem anticoagulante (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, EUA). As amostras de sangue foram centrifugadas a $1.000 \times g$ durante 10 minutos, e delas foram separadas alíquotas de 2,0 mL de soro sanguíneo que foram armazenadas em tubos tipo Eppendorf, previamente identificados e mantidos à temperatura de -20°C , até o momento dos exames laboratoriais.

Foram determinadas as atividades das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) (método de Szasz modificado), aspartato aminotransferase (AST) (método de cinética UV-IFCC), creatina quinase (CK) (método UV) e fosfatase alcalina (ALP) (método de Bowers e McComb modificado), bem como as concentrações de proteína total (método do biureto), albumina (método do verde de bromocresol), cálcio total (método de CPC), fósforo (método de Daly e Ertinghausen modificado) e ferro (método de Goodwin modificado), utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semiautomático (Labquest, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste. As globulinas foram calculadas a partir da diferença entre as concentrações de proteína total e albumina. As concentrações de imunoglobulina G (IgG) foram determinadas pelo fracionamento proteico realizado por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), segundo técnica proposta por LAEMMLI (1970). Após o fracionamento, o gel foi corado durante 10 minutos em solução de azul de coomassie 0,25% e, posteriormente, descorado em solução de ácido acético 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações proteicas se apresentassem nítidas. As concentrações de IgG foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS-9301PC, Tóquio, Japão). Como referência, foi utilizada uma solução marcadora (Sigma, St Louis, MO, EUA) com diferentes pesos moleculares, além da proteína purificada IgG bovina.

Foram determinados, ainda, os teores de cálcio ionizado, sódio e potássio, em analisador de íons (9180 Electrolyte Analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), usando o teste de Tukey para comparação entre as médias, após a verificação da homogeneidade das

amostras (ZAR, 1999). A significância foi verificada a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram efetuadas com o programa SAS (Statistical Analysis System). O projeto de pesquisa foi avaliado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal e aprovado sob o protocolo número 010028/2014.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das atividades séricas das enzimas dos bezerros bubalinos da raça Murrah filhos de búfalas primíparas (G1), filhos de búfalas multíparas com duas a quatro parições (G2) e com cinco a 14 parições (G3), do nascimento aos 30 dias de idade, são apresentados na Tab. 1 e na Fig. 1.

Tabela 1. Média $\pm$ desvio-padrão das atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), gamaglutamiltransferase (GGT), e fosfatase alcalina (ALP) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.

Grupo	Momentos							
	M0 (0h)	M1 (24h)	M2 (48h)	M3 (72h)	M4 (7 dias)	M5 (14 dias)	M6 (21 dias)	M7 (30 dias)
Aspartato aminotransferase (U/L)								
G1	41,0 $\pm$ 3,94Ad	108 $\pm$ 16,3Aa	103 $\pm$ 11,84Aab	92,5 $\pm$ 16,4Abc	90,1 $\pm$ 11,7Abc	87,0 $\pm$ 14,1Ac	88,7 $\pm$ 28,5Ac	82,8 $\pm$ 10,7Ac
G2	41,9 $\pm$ 15,2Ae	105 $\pm$ 18,3Aa	97,3 $\pm$ 16,4Aab	87,3 $\pm$ 14,9Abc	75,3 $\pm$ 7,85Bcd	73,9 $\pm$ 40,1Bd	64,5 $\pm$ 11,0Bd	67,5 $\pm$ 13,5Bd
G3	44,9 $\pm$ 17,3Ad	108 $\pm$ 16,7Aa	101 $\pm$ 17,2Aab	91,7 $\pm$ 12,7Abc	79,9 $\pm$ 9,66ABc	74,3 $\pm$ 17,0ABc	76,0 $\pm$ 28,0ABc	75,0 $\pm$ 11,6ABc
Creatina quinase (U/L)								
G1	107 $\pm$ 51,0Ad	285 $\pm$ 106Aa	179 $\pm$ 45,0Aabc	124 $\pm$ 28,4Acd	170 $\pm$ 79,8Abc	213 $\pm$ 55,6Aab	251 $\pm$ 92,9Aab	215 $\pm$ 92,8Aab
G2	129 $\pm$ 66,9Abc	231 $\pm$ 95Aa	158 $\pm$ 102Abc	147 $\pm$ 113Ac	128 $\pm$ 42,6Ac	253 $\pm$ 143Aab	207 $\pm$ 48,0Aa	261 $\pm$ 128Aa
G3	115 $\pm$ 45,8Ae	324 $\pm$ 116Aa	170 $\pm$ 52,6Acde	123 $\pm$ 29,4Ae	150 $\pm$ 51,9Ade	228 $\pm$ 108Abcd	293 $\pm$ 162Aabc	247 $\pm$ 45,2Aab
Gamaglutamiltransferase (U/L)								
G1	15,3 $\pm$ 4,84Af	1.253 $\pm$ 797Ba	464 $\pm$ 297Bb	319 $\pm$ 210Ab	139 $\pm$ 87,4Bc	58,1 $\pm$ 32,4ABd	32,6 $\pm$ 17,0ABe	18,9 $\pm$ 7,58Aaf
G2	22,9 $\pm$ 7,65Afg	1.714 $\pm$ 814Aa	714 $\pm$ 376Ab	403 $\pm$ 173Ac	200 $\pm$ 106Ad	78,9 $\pm$ 51,8Ae	43,2 $\pm$ 34,6Af	20,5 $\pm$ 9,21Ag
G3	16,4 $\pm$ 2,89Af	1.074 $\pm$ 655Ba	341 $\pm$ 181Bb	205 $\pm$ 110Bc	97,1 $\pm$ 52,3Bd	44,0 $\pm$ 20,6Be	24,4 $\pm$ 8,48Bf	15,3 $\pm$ 3,95Afg
Fosfatase alcalina (U/L)								
G1	205 $\pm$ 102Ade	1.579 $\pm$ 901Aa	600 $\pm$ 283Ab	338 $\pm$ 143Ac	191 $\pm$ 40,8Ae	130 $\pm$ 24,6Adef	119 $\pm$ 28,7Adf	101 $\pm$ 32,8Af
G2	124 $\pm$ 38,5Ade	1.250 $\pm$ 510Aa	530 $\pm$ 301Ab	322 $\pm$ 174Ac	217 $\pm$ 136Ad	143 $\pm$ 59,5Ae	117 $\pm$ 41,5Ae	107 $\pm$ 46,8Ae
G3	158 $\pm$ 45,8Abd	1.297 $\pm$ 780Aa	465 $\pm$ 233Aa	275 $\pm$ 81,2Ab	194 $\pm$ 57,9Abc	137 $\pm$ 44,3Acde	112 $\pm$ 32,6Ade	97,9 $\pm$ 37,5Ae

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

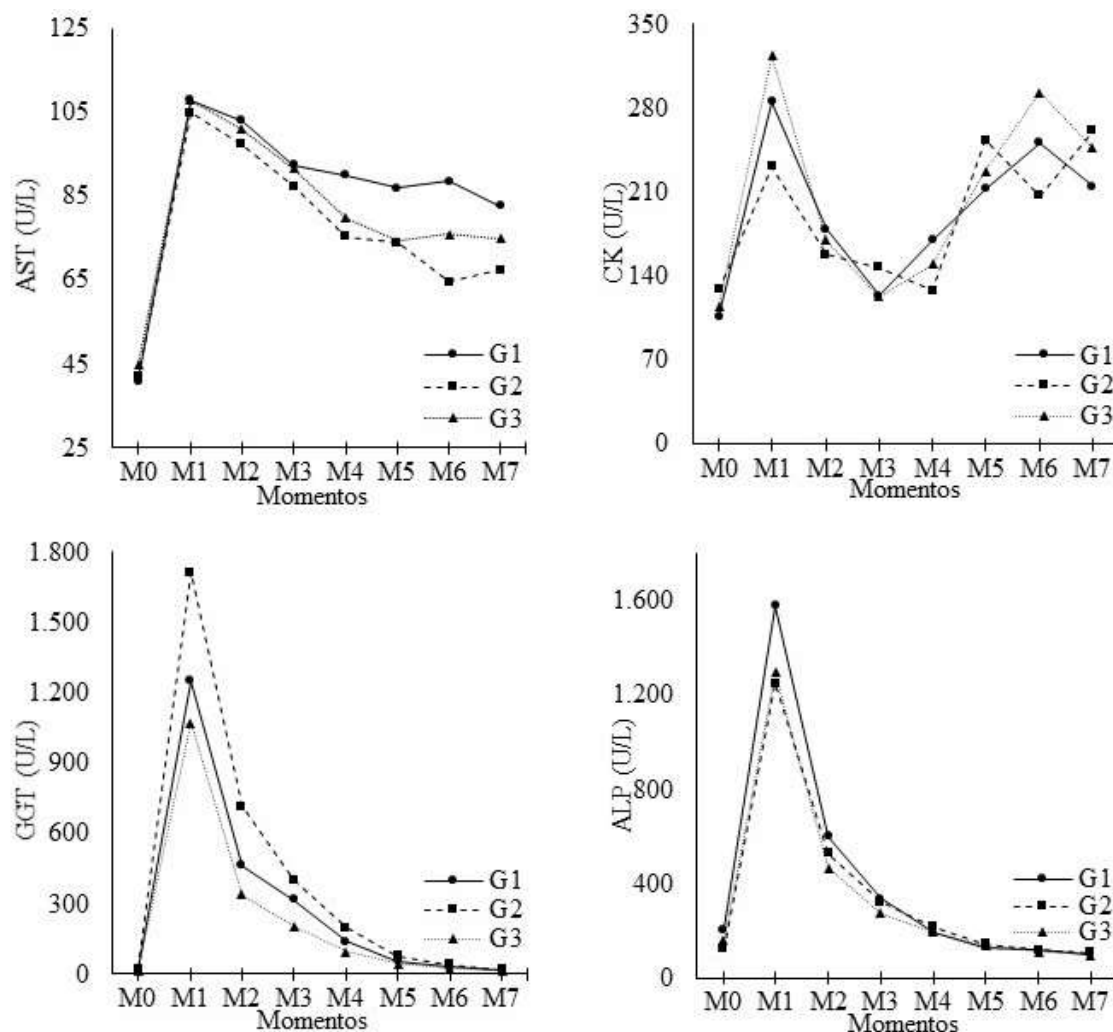


Figura 1. Valores médios das atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatina quinase (CK), gamaglutamiltransferase (GGT), e fosfatase alcalina (ALP) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro partições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 partições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.

O valor máximo das atividades de AST e CK foi observado 24 horas após o nascimento (M1), com diferença significativa nos três grupos (Tab. 1). A abrupta elevação dos valores destas duas enzimas entre o nascimento (M0) e 24 horas de idade (M1) pode ser atribuída a possíveis injúrias sofridas na musculatura esquelética do concepto durante o parto e ao início da utilização da musculatura para ficar em estação e se locomover (Boyd, 1989). Boyd (1989) e Benesi *et al.* (2003) também relataram

maiores valores de CK em bezerros bovinos às 24 horas após o parto, mas com valores menores que os do presente estudo. Esse aumento se justifica pela adaptação extrauterina do concepto, uma vez que o animal passa a assumir a posição de estação e a se movimentar (Kaneko *et al.*, 2008).

As atividades séricas de AST foram influenciadas pelo número de partições a partir dos 7 dias (M4) até os 30 dias (M7), quando os bezerros de búfalas primíparas (G1) apresentaram maior atividade sérica da enzima. O mesmo não ocorreu com a atividade sérica de creatina quinase (Tab. 1). A creatina quinase é oriunda principalmente da musculatura esquelética e cardíaca, sendo utilizada como marcador de lesão muscular; sua atividade pode estar aumentada após esforço, longo período em decúbito, traumatismo e dano à musculatura (Kaneko *et al.*, 2008). As atividades séricas de CK nos bezerros bubalinos diminuíram até às 72 horas (M3) e a partir dos sete dias (M4) aumentaram, mantendo valores elevados até aos 30 dias (M7) (Fig. 1). Esse aumento é esperado, já que no primeiro mês de idade há um crescimento acelerado do bezerro e o mesmo passa a ter maior interação social com os demais bezerros do rebanho como correr pelo piquete, pular e dar cabeçadas (Klinkon e Jezek, 2012).

Os valores médios da atividade sérica de GGT e ALP foram influenciados pela idade, ao longo dos momentos, em todos os grupos (Fig. 1). Houve influência do número de partições ao longo do estudo, com exceção do momento antes da colostragem (M0) e aos 30 dias (M7) (Tab. 1), diferente do relatado por Feitosa *et al.* (2010), que não verificaram diferença nos valores de GGT nas primeiras 48 horas de vida de bezerros filhos de vacas múltíparas e primíparas, e a semelhança do estudo de Rocha *et al.* (2012), que constataram diferença nos valores médios de GGT e de ALP entre bezerros bovinos filhos de primíparas e de filhos de vacas múltíparas, nas primeiras 24 horas após o nascimento (Tab. 2).

Tabela 2. Resultados de estudos prévios das atividades séricas de gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP) e das concentrações séricas de proteína total e imunoglobulina G (IgG) de bezerros bovinos, antes da ingestão do colostro (0h), às 24h e às 48h.

Nº de Partos	Autor/Ano	Espécie/Raça	Momentos		
			0h	24h	48h
GGT (U/L)					
Primíparas	Feitosa <i>et al.</i> (2010)	Bovino/Nelore		1.910±2335	
Múltíparas				2.398±2077	
Primíparas	Rocha <i>et al.</i> (2012)	Bovino/Cachim-Nelore	18,8±5,05	3.746±1.522	1.899±987
Múltíparas			25,9±9,66	2.881±1.644	1.414±868
ALP (U/L)					
Primíparas	Rocha <i>et al.</i> (2012)	Bovino/Cachim-Nelore	307±63,3	1.030±415	434±112
Múltíparas			351±184	746±272	365±104
Primíparas	Feitosa <i>et al.</i> (2010)	Bovino/Nelore		6,06±1,12	
Múltíparas				6,45±1,25	
Primíparas	Rocha <i>et al.</i> (2012)	Bovino/Cachim-Nelore	3,48±0,27	6,78±0,88	6,88±0,90
Múltíparas			4,26±0,25	7,75±1,06	7,77±1,12
Primíparas	Santos <i>et al.</i> (2013)	Bovino/Holandês	4,05±2,38	7,14±1,78	7,38±0,52
Múltíparas			4,30±0,44	6,89±0,74	7,02±0,83
IgG (mg/dL)					
Primíparas	Feitosa <i>et al.</i> (2010)	Bovino/Nelore		2.696±854	
Múltíparas				2.865±1.196	
Primíparas	Rocha <i>et al.</i> (2012)	Bovino/Cachim-Nelore	420±232	2.651±624	2.550±587
Múltíparas			410±267	2.918±852	2.822±825
Primíparas	Santos <i>et al.</i> (2013)	Bovino/Holandês	378±189	2.738±298	2.219±449
Múltíparas			463±62	2.251±88	2.274±156

Os bezerros bubalinos apresentaram maiores atividades séricas de GGT e ALP às 24 horas após o nascimento (M1), com diferença significativa em relação aos demais

momentos, fato em comum com a literatura consultada (Fagliari *et al.*, 1996; Knowles *et al.*, 2000; Feitosa *et al.*, 2001; Rocha *et al.*, 2012; Pérez-Santos *et al.*, 2015). O aumento expressivo nos valores destas enzimas entre o M0 e o M1 deve-se à absorção da GGT e da ALP presentes no colostro pelo bezerro, ambas são produzidas em grande quantidade pelas células da glândula mamária (Kaneko *et al.*, 2008). A atividade sérica da GGT em bezerros que mamaram ou foram alimentados com colostro é 60 a 160 vezes maior do que aquela verificada nas vacas; é descrita correlação significativa entre a atividade desta enzima e a concentração sérica de IgG (Fagliari *et al.*, 1996; Radostits *et al.*, 2007; Feitosa *et al.*, 2010).

A mensuração da atividade sérica da ALP não é recomendada como forma de avaliação indireta da transferência de imunidade passiva (TIP) em bovinos, pela baixa correlação com os teores séricos de IgG (Rocha *et al.*, 2012). No entanto a elevação dos valores da enzima às 24 horas (M1) e 48 horas (M2) dos bezerros bubalinos é sobremaneira maior que as relatadas em bovinos (Tab. 2). Assim a mensuração da ALP na espécie, deve ser estudada como alternativa de avaliação da TIP, desde que identificada a origem da enzima, uma vez que há aumento da atividade da isoenzima óssea de ALP em animais com alta atividade osteoblástica, como em neonatos (Kaneko *et al.*, 2008).

A atividade sérica da GGT a partir de 24 horas após o parto (M1) sofreu redução significativa dos valores, perdurando até aos 30 dias (M7), momento em que a atividade enzimática volta a se assemelhar ao momento anterior a colostragem (Tab. 1). Tal redução é resultado da degradação da enzima no intestino do bezerro ao longo do tempo (Kaneko *et al.*, 2008). Os valores elevados de GGT nas primeiras três semanas de idade do neonato dificultam a utilização dessa enzima na avaliação hepática do animal, necessitando-se mensuração concomitante das enzimas AST e a ALP para uma correta interpretação dos resultados (Kaneko *et al.*, 2008). As atividades séricas da ALP diminuíram ao longo do tempo, o que pode ser atribuído à degradação da enzima advinda do colostro e ao processo de calcificação das epífises, com menor atividade sérica da isoenzima ALP óssea (Kaneko *et al.*, 2008).

Os resultados das concentrações séricas das proteínas dos bezerros bubalinos da raça Murrah filhos de búfalas primíparas (G1), filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e com cinco a 14 parições (G3), do nascimento aos 30 dias de idade, são apresentados na Tab. 3 e na Fig. 2.

Tabela 3. Média $\pm$ desvio-padrão das concentrações séricas de proteína total, albumina globulinas e imunoglobulina G (IgG) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.

Grupo	Momentos							
	M0 (0h)	M1 (24h)	M2 (48h)	M3 (72h)	M4 (7 dias)	M5 (14 dias)	M6 (21 dias)	M7 (30 dias)
Proteína total (g/dL)								
G1	4,68 $\pm$ 0,17Ae	9,21 $\pm$ 2,00Aa	8,94 $\pm$ 1,49Aa	8,83 $\pm$ 1,67Aab	8,34 $\pm$ 1,30Aab	8,06 $\pm$ 0,93Abc	7,55 $\pm$ 0,93Acd	7,21 $\pm$ 0,79Ad
G2	4,70 $\pm$ 0,13Ae	8,36 $\pm$ 1,03ABab	8,43 $\pm$ 1,01ABa	8,37 $\pm$ 1,03ABab	8,10 $\pm$ 1,04Aab	7,68 $\pm$ 0,90Abc	7,31 $\pm$ 0,79Acd	6,77 $\pm$ 0,94Ad
G3	4,88 $\pm$ 0,32Ad	7,78 $\pm$ 1,56Bab	7,97 $\pm$ 1,65Ba	7,87 $\pm$ 1,72Bab	7,60 $\pm$ 1,35Aab	7,41 $\pm$ 1,03Aabc	7,08 $\pm$ 0,79Abc	6,77 $\pm$ 0,59Ac
Albumina (g/dL)								
G1	2,49 $\pm$ 0,19Aab	1,95 $\pm$ 0,24Bd	2,06 $\pm$ 0,28Ad	2,09 $\pm$ 0,21Bcd	2,28 $\pm$ 0,24Bbc	2,44 $\pm$ 0,28Aab	2,46 $\pm$ 0,20Bab	2,51 $\pm$ 0,26Aa
G2	2,52 $\pm$ 0,21Aab	2,14 $\pm$ 0,20Ad	2,22 $\pm$ 0,22Acd	2,34 $\pm$ 0,25Abc	2,51 $\pm$ 0,23Aab	2,55 $\pm$ 0,17Aa	2,65 $\pm$ 0,24ABa	2,58 $\pm$ 0,37Aa
G3	2,44 $\pm$ 0,26Abc	2,06 $\pm$ 0,26ABd	2,17 $\pm$ 0,26Acd	2,29 $\pm$ 0,24Ac	2,46 $\pm$ 0,17ABb	2,57 $\pm$ 0,22Aab	2,66 $\pm$ 0,24Aa	2,55 $\pm$ 0,18Aab
Globulinas (g/dL)								
G1	2,19 $\pm$ 0,08Af	7,26 $\pm$ 2,19Aa	6,88 $\pm$ 1,71Aa	6,73 $\pm$ 1,82Aab	6,09 $\pm$ 1,43Abc	5,62 $\pm$ 1,12Acd	5,09 $\pm$ 1,05Ade	4,70 $\pm$ 0,82Ae
G2	2,26 $\pm$ 0,18Ae	6,22 $\pm$ 1,12Ba	6,16 $\pm$ 1,07ABa	6,04 $\pm$ 1,05ABa	5,60 $\pm$ 1,05ABab	5,13 $\pm$ 0,98ABbc	4,66 $\pm$ 0,71Acd	4,19 $\pm$ 0,83Ad
G3	2,42 $\pm$ 0,42Ae	5,72 $\pm$ 1,65Ba	5,80 $\pm$ 1,70Ba	5,58 $\pm$ 1,79Bab	5,15 $\pm$ 1,31Babc	4,84 $\pm$ 1,06Bbcd	4,42 $\pm$ 0,85Acd	4,22 $\pm$ 0,59Ad
Imunoglobulina G (mg/dL)								
G1	296 $\pm$ 205Ae	4.093 $\pm$ 1.558Aa	3.682 $\pm$ 1.207Aa	3.642 $\pm$ 1.289Aa	2.913 $\pm$ 972Ab	2.441 $\pm$ 732Abc	1.957 $\pm$ 647Acd	1.575 $\pm$ 521Ad
G2	341 $\pm$ 184Af	3.532 $\pm$ 858ABa	3.399 $\pm$ 770ABa	3.107 $\pm$ 793ABab	2.730 $\pm$ 699Abc	2.168 $\pm$ 577Acd	1.703 $\pm$ 456Ade	1.387 $\pm$ 478Aef
G3	274 $\pm$ 203Ae	3.125 $\pm$ 1.484Ba	3.009 $\pm$ 1.441Bab	2.822 $\pm$ 1.375Bab	2.424 $\pm$ 1.076Abc	1.964 $\pm$ 859Acd	1.556 $\pm$ 660Ade	1.356 $\pm$ 389Ade

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

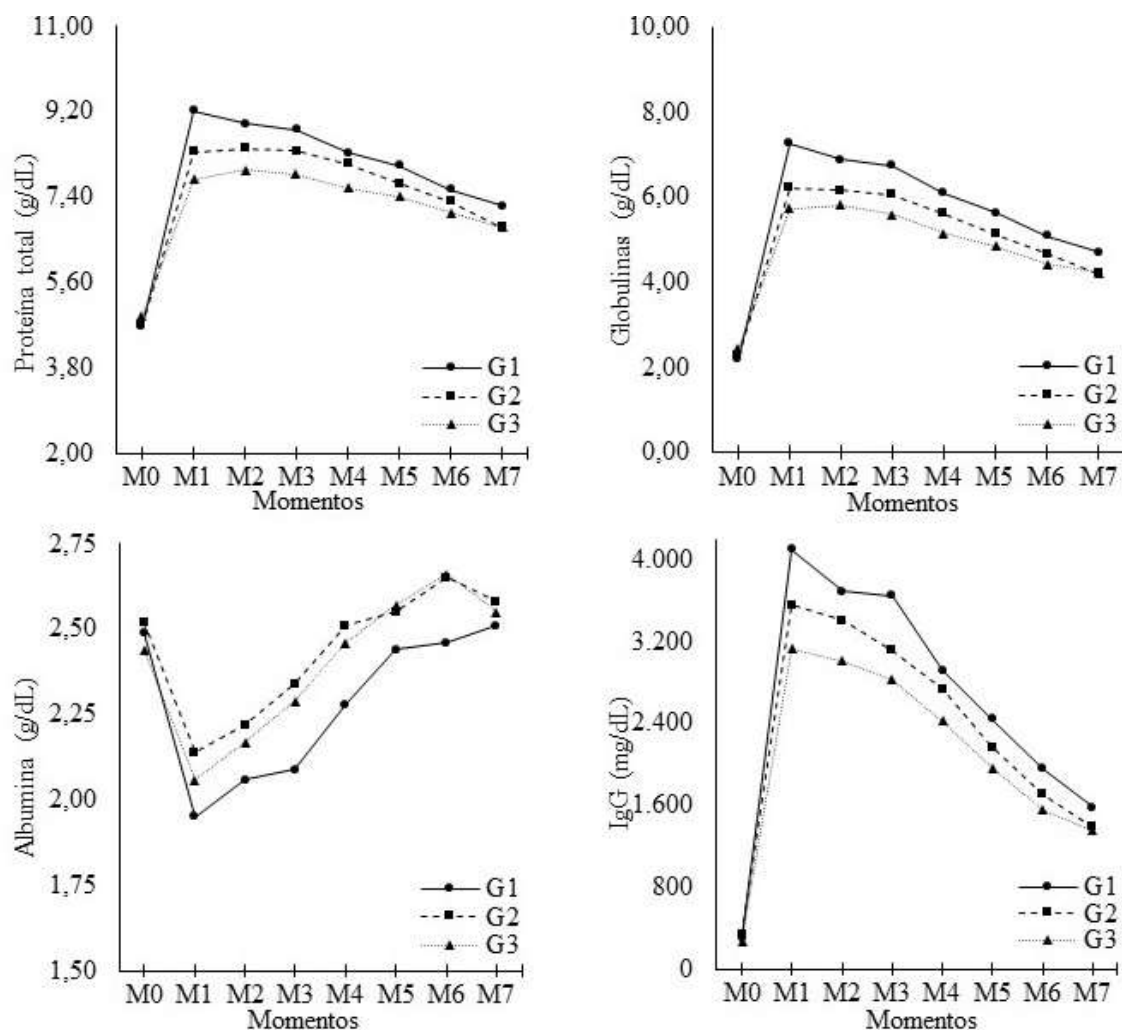


Figura 2. Valores médios das concentrações séricas de proteína total, albumina globulinas e imunoglobulina G (IgG) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.

Os teores séricos de proteína total e globulinas sofreram variações ao longo do período de estudo (Tab. 3); ambos os parâmetros apresentaram aumento abrupto entre o momento anterior a colostragem (M0) e 24 horas (M1) após o nascimento. A determinação da concentração sérica de proteína total dos bezerros é útil como indicador indireto da transferência de imunidade passiva, uma vez que a elevação nos valores após o primeiro dia se deve, principalmente, à absorção de globulinas, em especial IgG,

apresentando correlação significativa com os valores de proteína total e globulinas (Feitosa *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2012).

As concentrações séricas de proteína total e globulinas diminuíram a partir das 24 horas após o nascimento (M1) até aos 30 dias de idade (M7) (Fig. 2), comportamento semelhante ao relatado em bezerros bovinos e bubalinos (Fagliari *et al.*, 1998; Rocha *et al.*, 2012; Pérez-Santos *et al.*, 2015). Tal redução decorre da degradação das imunoglobulinas adquiridas pelo colostro. Ao final do primeiro mês, o catabolismo das imunoglobulinas maternas termina e a produção endógena de imunoglobulinas passa a ter reflexo nos valores séricos de proteína total e globulinas (Daniele *et al.*, 1994; Baracat *et al.*, 1995).

O número de parições influenciou as concentrações de proteína total às 24 horas (M1), 48 horas (M2) e 72 horas (M3) com maiores teores de proteína total no grupo de bezerros filhos de búfalas primíparas (G1) (Tab. 3), diferente dos resultados das literaturas consultadas (Feitosa *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2012) (Tab. 2). A ordem de parto também influenciou os resultados de globulinas, uma vez que o grupo de bezerros filhos de búfalas primíparas (G1) apresentou maiores teores séricos de globulinas a partir das 24 horas após o nascimento até os 14 dias de idade (M5), diferentemente do que acontece em bezerros bovinos, em que os filhos de fêmeas múltiparas apresentaram maiores valores ao longo da primeira semana (Rocha *et al.*, 2012).

Os teores séricos de albumina foram influenciados pela ordem de parição às 24 (M1), 72 horas (M3) após o parto e aos 7 (M4) e 21 dias (M6) de idade; os grupos constituídos por bezerros filhos de búfalas múltiparas (G2 e G3) apresentaram média superior ao G1 (Tab. 3). Os bezerros bubalinos apresentaram variação dos teores séricos de albumina ao longo do período neonatal, com redução significativa da concentração de albumina nas primeiras horas após o parto, provavelmente em razão da rápida expansão plasmática após a colostragem dos bezerros e de alterações na concentração sérica de albumina pela absorção das imunoglobulinas presentes no colostro.

Os valores de albumina sérica obtidos apresentaram cinética semelhante àquela relatada em bezerros bovinos a partir das 24 horas após o nascimento (Knowles *et al.*, 2000; Piccione *et al.*, 2009), quando houve aumento gradual no teor de albumina até aos 21 dias, com posterior decréscimo no final do primeiro mês (Fig. 2). As variações nas concentrações séricas de albumina, observadas ao longo do tempo nos bubalinos

estudados, provavelmente estão relacionadas à maturação do tecido hepático e ao início da ingestão de dieta sólida pelo bezerro ao final da primeira semana de idade, quando o animal passa a receber maior quantidade de compostos nitrogenados oriundos da dieta (Knowles *et al.*, 2000; Birgele e Ilgaza, 2003; Kaneko *et al.*, 2008).

As concentrações séricas de IgG assumiram valor máximo às 24 horas após o nascimento (M1) (Tab. 3). Com valores considerados ótimos para transferência de imunidade passiva (Feitosa *et al.*, 2010). Diferentemente do relatado em estudos realizados em bovinos (Feitosa *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2012), os maiores teores séricos de IgG foram observados nos bezerros filhos de búfalas primíparas (G1) durante todo o período neonatal (Fig. 2). Os bezerros bubalinos filhos de búfalas multíparas com cinco a 14 parições (G3) apresentaram as menores concentrações séricas de IgG, provavelmente pela menor capacidade imune das búfalas de mais elevada idade, que resulta em uma menor quantidade de imunoglobulinas no colostro.

Os resultados das concentrações séricas de cálcio total, ferro, fósforo, sódio, potássio e cálcio ionizado dos bezerros bubalinos da raça Murrah filhos de búfalas primíparas (G1), filhos de búfalas multíparas com duas a quatro parições (G2) e com cinco a 14 parições (G3), do nascimento aos 30 dias de idade, são apresentados na Tab. 4 e na Fig. 3.

Tabela 4. Média $\pm$ desvio-padrão das concentrações séricas de cálcio total, ferro, fósforo, sódio (Na), potássio (K) e cálcio ionizado (Cai) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1), bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.

Grupo	Momentos							
	M0 (0h)	M1 (24h)	M2 (48h)	M3 (72h)	M4 (7 dias)	M5 (14 dias)	M6 (21 dias)	M7 (30 dias)
Cálcio total (mg/dL)								
G1	9,44 $\pm$ 0,72Aab	9,83 $\pm$ 0,44Aab	10,1 $\pm$ 0,90Aab	10,7 $\pm$ 0,85Aa	10,5 $\pm$ 0,85Aa	10,1 $\pm$ 0,80Aab	10,2 $\pm$ 0,96Aab	9,50 $\pm$ 0,65Ab
G2	9,69 $\pm$ 1,47Aabc	9,80 $\pm$ 1,53Ac	10,6 $\pm$ 1,07Aab	10,8 $\pm$ 1,37Aa	10,9 $\pm$ 1,28Aa	10,3 $\pm$ 1,24Aabc	9,96 $\pm$ 1,47Abc	9,70 $\pm$ 1,64Ac
G3	9,98 $\pm$ 0,82Aabc	9,48 $\pm$ 1,06Abc	9,16 $\pm$ 1,02Aab	10,4 $\pm$ 0,88Aab	10,4 $\pm$ 0,86Aa	9,76 $\pm$ 0,96Aabc	9,87 $\pm$ 1,16Aabc	9,19 $\pm$ 0,85Ac
Ferro (μg/dL)								
G1	81,5 $\pm$ 24,3Aab	98,9 $\pm$ 32,3Ab	119 $\pm$ 41,5Aab	112 $\pm$ 49,9Ab	102 $\pm$ 51,1Ab	147 $\pm$ 94,0Aab	156 $\pm$ 70,2Aab	214 $\pm$ 89,2Aa
G2	89,3 $\pm$ 41,6Aabcd	74,6 $\pm$ 39,0Ab	106 $\pm$ 45Aabcd	101 $\pm$ 76Ab	137 $\pm$ 133Abd	131 $\pm$ 92,0Aabcd	172 $\pm$ 104Aac	194 $\pm$ 75,9Aa
G3	81,3 $\pm$ 20,7Ac	88,0 $\pm$ 47,2Ab	135 $\pm$ 81,9Aabc	133 $\pm$ 65,4Aabc	160 $\pm$ 141Aabc	146 $\pm$ 70,5Aabc	213 $\pm$ 97,0Aa	178 $\pm$ 85,8Aac
Fósforo (mg/dL)								
G1	5,34 $\pm$ 0,32Ab	7,70 $\pm$ 1,88Aa	8,40 $\pm$ 1,60Aa	8,94 $\pm$ 1,44Aa	8,99 $\pm$ 1,29Aa	8,70 $\pm$ 0,77Aa	8,33 $\pm$ 1,05Aa	8,13 $\pm$ 0,60Aa
G2	5,31 $\pm$ 0,64Ac	6,47 $\pm$ 1,13Ac	7,77 $\pm$ 1,84Ab	8,98 $\pm$ 1,59Aa	9,44 $\pm$ 0,98Aa	8,65 $\pm$ 0,74Aab	8,53 $\pm$ 1,02Aab	8,44 $\pm$ 1,04Aab
G3	5,46 $\pm$ 0,83Ad	6,70 $\pm$ 1,83Acd	7,36 $\pm$ 1,96Abc	9,10 $\pm$ 1,96Aa	9,30 $\pm$ 1,30Aa	8,61 $\pm$ 1,04Aab	8,38 $\pm$ 0,75Aab	8,09 $\pm$ 1,16Aab
Na (mMol/L)								
G1	136 $\pm$ 3,78Aab	138 $\pm$ 2,37Aa	135 $\pm$ 1,41Aab	135 $\pm$ 2,44Ab	136 $\pm$ 5,53Ab	136 $\pm$ 1,68Aab	134 $\pm$ 2,16Ab	133A $\pm$ 3,37Ab
G2	133 $\pm$ 6,00Aab	141 $\pm$ 12,8Aa	138 $\pm$ 4,00Aa	138 $\pm$ 8,25Aab	136 $\pm$ 2,97Aa	133 $\pm$ 2,59Abc	133 $\pm$ 3,27Abc	132 $\pm$ 4,96Ac
G3	137 $\pm$ 2,19Aabc	137 $\pm$ 1,24Aa	136 $\pm$ 1,74Aab	135 $\pm$ 2,25Aabc	136 $\pm$ 3,17Aa	134 $\pm$ 3,21Aabc	134 $\pm$ 3,01Abc	132 $\pm$ 4,98Ac
K (mMol/L)								
G1	4,70 $\pm$ 0,28Aa	4,59 $\pm$ 0,40Aa	4,73 $\pm$ 0,33Aa	4,81 $\pm$ 0,39Aa	5,03 $\pm$ 0,38Aa	4,83 $\pm$ 0,53Aa	4,76 $\pm$ 0,62Aa	4,79 $\pm$ 0,33Aa
G2	4,38 $\pm$ 0,31Aab	4,69 $\pm$ 0,64Ab	4,81 $\pm$ 0,50Aab	4,99 $\pm$ 0,55Aab	5,17 $\pm$ 0,40Aa	4,92 $\pm$ 0,47Aab	4,99 $\pm$ 0,46Aab	4,96 $\pm$ 0,37Aab
G3	4,67 $\pm$ 0,43Aa	4,72 $\pm$ 0,35Aa	4,73 $\pm$ 0,25Aa	4,89 $\pm$ 0,36Aa	5,15 $\pm$ 0,33Aa	5,00 $\pm$ 0,49Aa	4,98 $\pm$ 0,54Aa	4,89 $\pm$ 0,46Aa
Cai (mMol/L)								
G1	0,90 $\pm$ 0,10Aa	1,02 $\pm$ 0,09Aa	0,97 $\pm$ 0,07Aa	0,90 $\pm$ 0,11Aa	0,95 $\pm$ 0,09Aa	0,93 $\pm$ 0,07Aa	0,94 $\pm$ 0,09Aa	0,94 $\pm$ 0,08Aa
G2	1,01 $\pm$ 0,09Aa	1,03 $\pm$ 0,13Aa	0,98 $\pm$ 0,13Aa	0,94 $\pm$ 0,12Aa	0,93 $\pm$ 0,09Aa	0,94 $\pm$ 0,11Aa	0,93 $\pm$ 0,10Aa	0,94 $\pm$ 0,07Aa
G3	0,97 $\pm$ 0,08Aa	1,00 $\pm$ 0,14Aa	0,99 $\pm$ 0,12Aa	0,90 $\pm$ 0,10Aa	0,94 $\pm$ 0,09Aa	0,97 $\pm$ 0,07Aa	0,93 $\pm$ 0,09Aa	0,97 $\pm$ 0,07Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

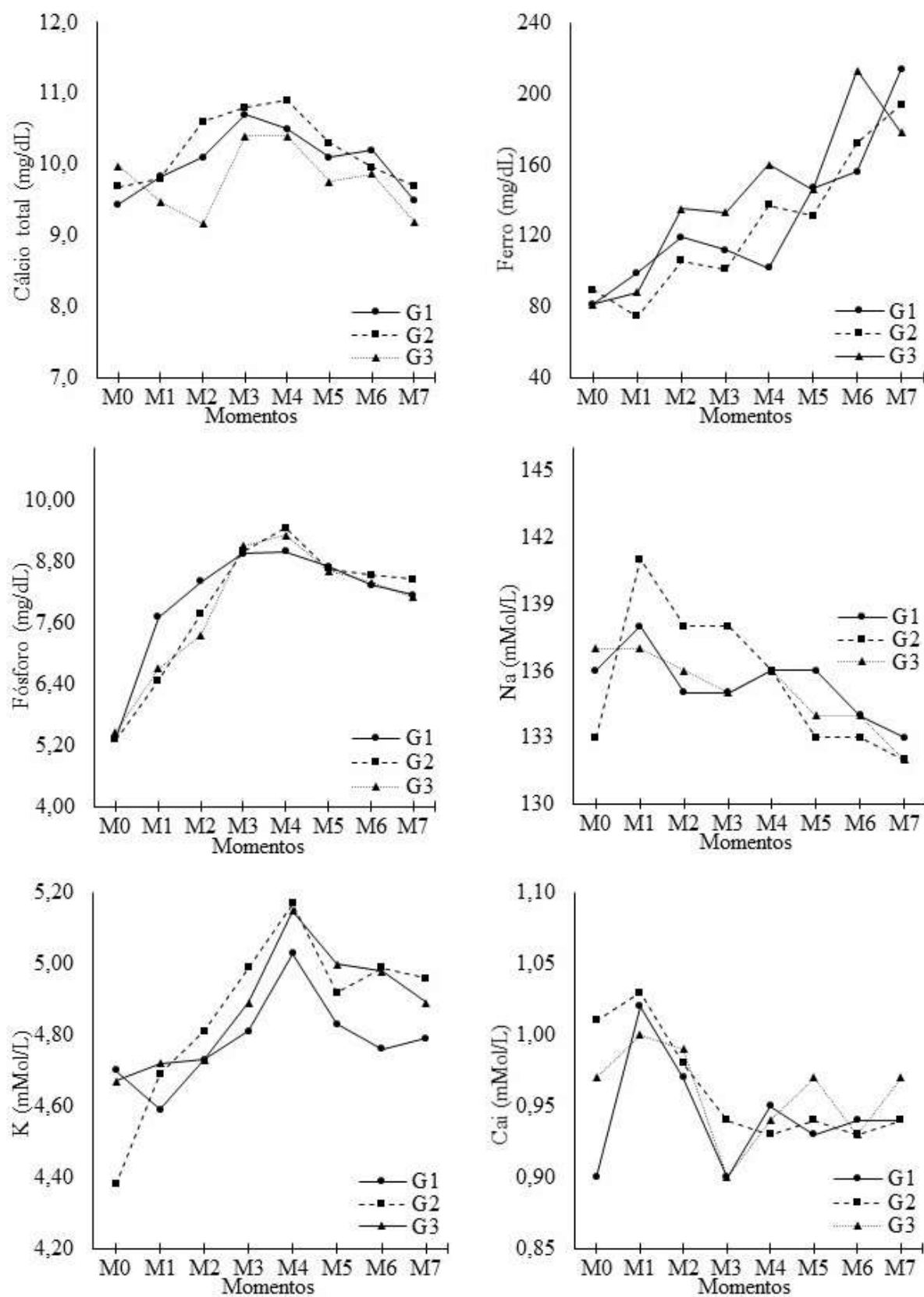


Figura 3. Valores médios das concentrações séricas de cálcio total, ferro, fósforo, sódio (Na), potássio (K) e cálcio ionizado (Cai) de bezerros bubalinos filhos de búfalas primíparas (G1),

bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com duas a quatro parições (G2) e bezerros bubalinos filhos de búfalas múltíparas com cinco a 14 parições (G3) ao nascimento, antes da ingestão do colostro (M0), às 24h (M1), 48h (M2), 72h (M3) após o nascimento e aos 7 (M4), 14 (M5), 21 (M6) e 30 (M7) dias de idade.

Os teores séricos de cálcio total não foram influenciados pelo número de parições (Tab. 4), como relatado em bezerros bovinos (Rocha *et al.*, 2012). As concentrações do mineral variaram ao longo do tempo (Fig. 3). Do nascimento (M0) até os 7 dias (M4) de idade houve aumento das concentrações nos três grupos, o que pode ser atribuído à absorção do cálcio oriundo do colostro (Jezek *et al.*, 2006). A partir dos 14 dias (M5), os resultados tiveram leve alteração, com maior redução aos 30 dias (M7). A avaliação da concentração sérica de cálcio total é importante para o ajuste deste elemento nas dietas e na detecção de possíveis problemas metabólicos e renais (Kaneko *et al.*, 2008).

Os teores séricos de ferro apresentaram aumento ao longo do período de estudo (Tab. 4), principalmente a partir dos 7 dias (M4), quando os bezerros passaram a se alimentar de forragem e ração (Fig. 3). Ao nascimento, os bezerros bovinos apresentam deficiência de ferro devido à baixa concentração desse mineral no colostro, ao rápido crescimento e à escassa reserva do mineral no organismo (Kaneko *et al.*, 2008). Os bezerros bubalinos apresentam crescimento nos teores de ferro sérico ao longo do primeiro mês de vida, diferente do que acontece em bovinos que apresentam queda nos teores do mineral até os 30 dias e com valores médios menores do que os dos búfalos estudados (Knowles *et al.*, 2000). Tal diferença é atribuída à maior concentração do ferro no leite de búfala quando comparado com o leite de vaca: 61 ppm contra 37 ppm (Verruma e Salgado, 1994).

As concentrações séricas de ferro não foram influenciadas pelo número de parições, não apresentando diferença significativa entre os grupos estudados (Tab. 4). A avaliação dos teores séricos de ferro é de grande importância, pois este mineral participa de vários processos metabólicos, como na hematopoese, na síntese de hemoglobina, na ativação da resposta imune celular e na interação patógeno-hospedeiro (Kaneko *et al.*, 2008). O ferro também está relacionado com o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), que tem relação direta com o ganho de peso e crescimento do animal (Prodanovic *et al.*, 2014). Enquanto os bezerros bovinos apresentam necessidade de suplementação do ferro (Atyabi *et al.*, 2006), a suplementação em bubalinos não é recomendada pelo risco de intoxicação.

Os teores séricos de fósforo inorgânico não foram influenciados pelo número de parições (Tab. 4). As concentrações séricas do mineral aumentaram desde M0 até aos 7 dias de vida (M4) (Fig. 3), provavelmente devido à maior reabsorção renal de fosfato pelos animais jovens em decorrência da ação do hormônio de crescimento (Rosol e Capen, 1997). A partir deste momento, houve tendência de queda até aos 30 dias (M7). As concentrações séricas de fósforo inorgânico dos animais do estudo foram maiores que as relatadas em bezerros bubalinos (Fagliari *et al.*, 1998) e menores do que as de bezerros bovinos (Piccione *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2012).

O número de parições não influenciou os resultados das concentrações séricas dos eletrólitos mensurados (Tab. 4). Os teores séricos de sódio, potássio e cálcio ionizado sofreram discreta variação ao longo do período do estudo (Fig. 3). Os valores de cálcio ionizado não foram afetados pelo fator etário, assim como os teores de potássio nos grupos G1 e G3. A dosagem de eletrólitos é de extrema importância para avaliar a saúde dos animais, uma vez que desequilíbrios eletrolíticos acarretam alterações na estabilidade das membranas celulares, no pH dos fluidos corpóreos, na volemia, nos batimentos cardíacos e nas contrações musculares; ademais, é essencial para a correção de desequilíbrios ácido-base e no balanço cátion-ânion das dietas (Kaneko *et al.*, 2008).

CONCLUSÃO

O fator etário influenciou todos os parâmetros bioquímicos, com exceção das concentrações de cálcio ionizado e de potássio dos bezerros dos grupos G1 e G3. A ordem de parições das búfalas influenciou as atividades séricas de AST e GGT, e as concentrações séricas de proteína total, albumina, globulinas e IgG dos bezerros bubalinos. Tais influências devem ser levadas em consideração para se distinguir as alterações fisiológicas das alterações patológicas. A atividade sérica elevada de ALP nos dois primeiros dias após o nascimento, indica a possível utilização desse parâmetro como método indireto de avaliação da TIP. As concentrações de ferro sérico dos bezerros bubalinos apresentaram valores elevados, contraindicando-se a suplementação desse mineral nesses animais na fase neonatal.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudo (Processo: 2014/09246-5).

REFERÊNCIAS

- ANUÁRIO BRASILEIRO DA PECUÁRIA. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2014. 66 p.
- ATYABI, N.; GHARAGOZLOO, F.; NASSIRI, S. M. The necessity of iron supplementation for normal development of commercially reared suckling calves. *Comp. Clin. Pathol.*, v. 15, n. 3, p. 165-168, 2006.
- BARACAT, R.S.; MACHADO NETO, R.; DANIELE, C. *et al.* Influência do fornecimento prolongado de colostro sobre a flutuação de proteínas séricas em bezerros com diferentes níveis de imunidade passiva sérica. *Sci. Agric.*, v.52, n.3, p.537-542, 1995.
- BENESI, F.J.; LEAL, M.L.R.; LISBOA, J.A.N. *et al.* Parâmetros bioquímicos para avaliação da função hepática em bezerras sadias da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. *Cienc. Rural*, v.33, n.2, p.311-317, 2003.
- BIRGELE, E.; ILGAZA, A. Age and feed effect on the dynamics of animal blood biochemical values in postnatal ontogenesis in calves. *Vet. Zoot.*, v.22, n.44, p.5-10, 2003.
- BOYD, J.W. Serum enzyme changes in newborn calves fed colostrum. *Vet. Clin. Path.*, v.18, n.2, p.47-51, 1989.
- DANIELE, C.; MACHADO NETO, R.; BARACAT, R.S. *et al.* Efeito de diferentes manejos de fornecimento prolongado de colostro sobre os níveis de proteína e albumina séricas e desempenho de bezerros recém-nascidas. *Sci. Agric.*, v.51, n.2, p.381-388, 1994.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. Exame clínico dos bovinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.
- FAGLIARI, J.J.; OLIVEIRA, E.C.; PEGORER, M.F. *et al.* Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.48, n.2, p.105-112, 1996.
- FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; LUCAS, F.A. *et al.* Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos da raça Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalis bubalis*) raça Murrah. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.50, n.3, p.253-62, 1998.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT 2015. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor>>. Acessado em: 19 ago. 2015.

- FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; MIRANDOLA, R.M.S. *et al.* Proteinograma sérico de bezerros holandeses do nascimento até um ano de vida. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v.8, n.2, p.105-108, 2001.
- FEITOSA, F.L.F.; CAMARGO, D.G.; YANAKA, R. *et al.* Índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros holandeses e nelores, às 24 e 48 horas de vidas: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina G e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase, para o diagnóstico de FTIP. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, n.8, p.696-704, 2010.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal, 2014. Efetivo dos rebanhos em 31.12 e variação anual, segundo as categorias - Brasil - 2013-2014.. 2015. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acessado em: 6 nov. 2015.
- JEZEK, J.; KLOPCIC, M.; KLINKON, M. Influence of age on biochemical parameters in calves. *Bull Vet. Inst. Pulawy*, v.50, n.2, p.211-214, 2006.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6 ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.
- KLINKON, M.; JEZEK, J. Values of blood variable in calves. A bird's-eye view of veterinary medicine. *intech*. 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/a-bird-s-eye-view-of-veterinary-medicine/values-of-blood-variables-in-calves>>. Acessado em: 4 nov. 2015.
- KNOWLES, T.G.; EDWARDS, J.E.; BAZELEY, K.J. *et al.* Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Vet. Rec.*, v.147, n.21, p.593-598, 2000.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970.
- PARDHAN, B.; PANDA, G.M. Calving pattern and mortality trends in Murrah buffaloes calves in Orisa. *Ind. J. Anim. Prod. H.*, v.10, n.4, p.143-146, 1994.
- PÉREZ-SANTOS, M.; CASTILLO, C.; HERNÁNDEZ, J. *et al.* Biochemical variables from Holstein-Friesian calves older than one week are comparable to those obtained from adult animals of stable metabolic status on the same farm. *Vet. Clin. Pathol*, v.44, n.1, p.145-151, 2015.
- PICCIONE, G.; CASELLA, S.; GIANNETTO, C. *et al.* Influences of age on profile of serum proteins in calf. *Acta Vet. Beograd*, v.59, n.4, p.413-422, 2009.

- PICCIONE, G.; CASELLA, S.; PENNISI, P. *et al.* Monitoring of physiological and blood parameters during perinatal and neonatal period in calves. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.62, n.1, p.1-12, 2010.
- PRODANOVIC, R.; KIROVSKI, D.; VUJANAC, I. *et al.* Relationship between serum iron and insulin-like growth factor-I concentrations in 10-day-old calves. *Acta Vet. Brno*, v.83, n.2, p.133-137, 2014.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. *et al.* Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10. ed. Londres: W.B. Saunders, 2007. 2065p.
- ROCHA, T.G.; NOCITI, R.P.; SAMPAIO, A.M. *et al.* Passive immunity transfer and serum constituents of crossbred calves. *Pesq. Vet. Bras.*, v.32, n.6, p.515-522, 2012.
- ROSOL T.J.; CAPEN C.C. 1997. Calcium regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *et al.* (Eds), Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997, p.619-702
- SANTOS, G.G.F.; DESCHK, M.; SILVA, A.K.G. *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.
- SHIVAHRE, P.R.; GUPTA, A.K.; PANMEI, A. *et al.* Mortality pattern of Murrah buffalo males in an organised herd. *Vet. World*, v.7, n.5, p.356-359, 2014.
- VERRUMA, M.R.; SALGADO, J.M. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. *Sci. Agrico.*, v.51, n.1, p.131-137, 1994.
- ZAR, J. H. Biostatistical analysis. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.