

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE VACAS DAS  
RAÇAS NELORE E GIROLANDA  
SORORREAGENTES OU NÃO À BRUCELOSE E  
LEPTOSPIROSE NO ESTADO DO MARANHÃO -  
BRASIL.**

**Washington Luis Ferreira Conceição**

Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

**2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE VACAS DAS RAÇAS  
NELORE E GIROLANDA SORORREAGENTES OU NÃO À  
BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE NO ESTADO DO  
MARANHÃO - BRASIL.**

**Washington Luis Ferreira Conceição**

**Orientador: Prof. Dr. José Jurandir Fagliari**

**Co-orientador: Prof. Dr. Luis Antônio Mathias**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Março de 2010

C744p Conceição, Washington Luis Ferreira  
Perfil bioquímico sérico de vacas das raças Nelore e Girolando sororreagentes ou não à brucelose e leptospirose no Estado do Maranhão - Brasil / Washington Luis Ferreira Conceição. – – Jaboticabal, 2010  
xii, 94 f.;il.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010

Orientador: José Jurandir Fagliari

Banca examinadora: Roberto Calderon Gonçalves, Raimundo Alves Barreto Júnior, Mário Roberto Hatayde, Daniela Gomes da Silva.

Bibliografia

1. Bovinos. 2. Parâmetros bioquímicos. 3. Valores de referência. 4. Proteinograma. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-074:636.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**WASHINGTON LUIS FERREIRA CONCEIÇÃO** - nascido em 06 de março de 1966 no município de São Luis - MA, é Médico Veterinário formado em 1991 pela Universidade Estadual do Maranhão - UEMA. Iniciou suas atividades docentes na Escola Agrotécnica Federal de São Luis - MA em 1997, onde atualmente é professor do Ensino Básico Técnico e Tecnológico. cursou mestrado em Ciência Animal, concentração em Produção de Animais de Interesse Zootécnico da Universidade Federal do Piauí – UFPI, concluindo-o em 2004, defendendo a dissertação “Inclusão da raspa integral de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) na alimentação de cordeiros em terminação”. cursou doutorado em Medicina Veterinária no período de outubro de 2006 a março de 2010 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus de Jaboticabal, através do doutorado interinstitucional (DINTER), entre a UNESP - Jaboticabal e a Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

**O mais importante da vida não é a situação em que estamos, mas a direção para a qual nos movemos.**

(Oliver Wendell Holmes)

## DEDICATÓRIAS

À minha esposa **Patricia**, pelo seu amor, apoio, paciência e compreensão.

Aos meus filhos **Lucas** e **Victor** que suportaram minha ausência durante o tempo que dediquei à execução deste trabalho.

Aos meus pais **Francisco** e **Eugênia** pelo incentivo constante e exemplo de vida.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte de toda existência.

Ao prof. Dr. **José Jurandir Fagliari**, pela orientação e especialmente pela amizade.

Ao prof. Dr. **Luis Antônio Mathias**, pela co-orientação e companheirismo.

À profa. Dra. **Rosângela Zacarias Machado**, pela amizade e apoio em todos os momentos.

Ao prof. Dr. **Gener Tadeu Pereira**, prof. Dr. **José Carlos Barbosa** e prof. **José Ribamar da Silva Júnior** pelo auxílio nas análises estatísticas.

À colega profa. Dra. **Francisca Neide Costa**, pela luta para implantação do DINTER entre a UNESP e a UEMA e pelo apoio durante a realização deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP) e a Pós Graduação em Medicina Veterinária Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização deste curso.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pela minha formação e participação no DINTER.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Campus São Luis Maracanã (IFMA) pela oportunidade oferecida para ampliação de meus conhecimentos

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e a Agência de Defesa Animal do Estado do Maranhão, pela doação das amostras de soro sanguíneo de bovinos para a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida e financiamento parcial da pesquisa.

Ao Prof. Dr. César Esper, exemplo de eficiência, em acreditar na implantação do DINTER entre a UNESP e a UEMA.

Aos Professores do DINTER que, em meio as suas inúmeras atividades, se deslocaram até São Luis e nos transmitiram os seus conhecimentos.

Aos colegas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Estado do Maranhão, especialmente Roberto Carlos Negreiros Arruda e José Cláudio Araújo Ferreira, pela colaboração e incentivo.

Aos colegas de curso, pelo companheirismo nesta jornada de sonhos, em que muitas foram às dificuldades, mas ainda maior a nossa determinação em vencer.

Aos pós-graduandos André Marcos Santana, Kalina Maria de Medeiros Gomes Simplício, Thaís Gomes Rocha, Camila Franciosi e Virna Clemente, pelo companheirismo e ajuda na condução dos trabalhos de laboratório.

Aos graduandos em Medicina Veterinária e bolsista de iniciação científica Vitor Toniollo Sarni e Gabriel Brolo Gouvêa, pelo auxílio durante a fase experimental.

Aos funcionários do Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Renata Lemos Nagib Jorge, Cláudia Aparecida da Silva

Nogueira e Paulo César da Silva, pelo auxílio no processamento dos exames bioquímicos e eletroforese necessária para a concretização desta pesquisa.

Aos funcionários e pós-graduandos do Laboratório de Diagnóstico de Leptospirose e Brucelose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Nivaldo Aparecido de Assis e Felipe Jorge da Silva, pelo auxílio na execução dos testes sorológicos e principalmente pela amizade.

À Dra. Sonizethe Silva Santana coordenadora do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal do Estado do Maranhão, pelo auxílio na realização e interpretação dos exames sorológicos

Às Med. Vet. Msc. Viramy M. de Almeida, Nancyleni Pinto Chaves e Margarida Prazeres, pelo auxílio no processamento das amostras de soro sanguíneo e na execução dos testes sorológicos para brucelose.

A meu amigo, Júlio César Mendonça Corrêa, por ser um exemplo de profissional e amigo, alguém a quem admiro muito por sua trajetória e competência.

Aos meus irmãos: Rosanna, Cláudia, Cristhianne, Willington e Wellington, pelo incentivo, força e companheirismo mesmo que à distância e pelo amor incondicional.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que eu chegasse até aqui.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE TABELAS .....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	vii
RESUMO.....	x
SUMMARY .....	xii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	4
2.1 Considerações sobre brucelose bovina .....	4
2.2 Considerações sobre leptospirose bovina .....	9
2.3 Perfil bioquímico sérico .....	14
2.3.1 Concentração sérica de colesterol e triglicérides .....	15
2.3.2 Concentração sérica de ureia e creatinina.....	16
2.3.3 Concentração sérica de bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta.....	18
2.3.4 Atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatinocinase (CK), fosfatase alcalina (FA) e gamaglutamiltrans ferase (GGT).....	20
2.3.5 Concentração sérica de cálcio total (Ca) e ionizado (Cai), fósforo (P), magnésio (Mg), sódio (Na) e Potássio (K) .....	23
2.3.6 Proteinograma sérico .....	25
3. OBJETIVOS .....	32
3.1 Objetivos gerais .....	32
3.2 Objetivos específicos .....	32
3.2.1 Experimento 1 .....	32
3.2.2 Experimento 2 .....	33
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	34
4.1 Área de estudo .....	34
4.2 Animais .....	36
4.3 Grupos experimentais .....	36

4.3.1 Experimento 1 .....	36
4.3.2 Experimento 2 .....	37
4.4 Colheita e preparação das amostras de sangue .....	37
4.5 Análises laboratoriais .....	38
4.5.1 Diagnósticos sorológicos .....	38
4.5.1.1 Sorodiagnóstico para brucelose .....	38
4.5.1.2 Sorodiagnóstico para leptospirose.....	40
4.5.2 Análises Bioquímicas .....	40
4.6 Análise estatística .....	41
5. RESULTADOS e DISCUSSÃO .....	42
5.1 Perfil bioquímico sérico .....	42
5.1.1 Experimento 1 .....	42
5.1.1.1 Enzimas, metabólitos e minerais .....	42
5.1.1.2 Proteinograma sérico .....	45
5.1.2 Experimento 2 .....	49
5.1.2.1 Enzimas .....	49
5.1.2.2 Metabólitos .....	53
5.1.2.3 Minerais .....	61
5.1.2.4 Proteinograma sérico .....	67
6. CONCLUSÕES .....	75
7. REFERÊNCIAS .....	77
APÊNDICES .....	93
Apêndice A .....	93

## LISTA DE TABELAS

## Páginas

<b>Tabela 1.</b> Médias e desvios padrão das atividades séricas de aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, gamaglutamitransferase, creatinocinase e teores séricos de uréia, creatinina, bilirrubina total, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, triglicérides, colesterol, cálcio total, fósforo, magnésio, sódio, potássio e cálcio ionizado de vacas saudas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão .....	43
<b>Tabela 2.</b> Médias e desvios padrão das concentrações séricas de proteína total (g/dL) e albumina (g/dL) de vacas saudas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.....	46
<b>Tabela 3.</b> Médias e desvios padrão das concentrações séricas das frações protéicas obtidas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de vacas saudas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão .....	48
<b>Tabela 4.</b> Médias e desvios padrão da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	49
<b>Tabela 5.</b> Médias e desvios padrão da atividade sérica da enzima fosfatase alcalina (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	51
<b>Tabela 6.</b> Médias e desvios padrão da da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	52

<b>Tabela 7.</b> Médias e desvios padrão da atividade sérica da creatinocinase (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na Região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	52
<b>Tabela 8.</b> Médias e desvios padrão da concentração sérica de ureia de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	53
<b>Tabela 9.</b> Médias e desvios padrão da concentração sérica de creatinina (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	55
<b>Tabela 10.</b> Médias e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina total (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	56
<b>Tabela 11.</b> Médias e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina indireta (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	56
<b>Tabela 12.</b> Médias e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina direta (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	56
<b>Tabela 13.</b> Médias e desvios padrão da concentração sérica de triglicérides (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	59

- Tabela 14.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de colesterol (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....60
- Tabela 15.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de cálcio total (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....62
- Tabela 16.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de cálcio ionizado (mMol/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....63
- Tabela 17.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de fósforo (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....65
- Tabela 18.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de magnésio (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....66
- Tabela 19.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de sódio (mMol/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....66
- Tabela 20.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de potássio (mMol/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....67

- Tabela 21.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de proteína total (g/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....67
- Tabela 22.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de albumina (g/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....68
- Tabela 23.** Médias e desvios padrão da concentração sérica das frações protéicas obtidas em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na Região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.....71

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Páginas</b>
<b>Figura 1.</b> Mapa do Maranhão com os quatros circuitos pecuários .....	35
<b>Figura 2.</b> Mapa do Maranhão com as regionais do circuito II .....	35
<b>Figura 3.</b> Teste antígeno acidificado tamponado (AAT). Esquerda: reação positiva. Direita: reação negativa .....	39
<b>Figura 4.</b> Teste 2-Mercaptoetanol (2ME). No 1 <sup>o</sup> tubo da esquerda a coluna de líquido se encontra límpida com presença de flocos de aglutinação no fundo do tubo (positivo). Nas demais diluições o antígeno permanece em suspensão e não há aglutinação (negativo) .....	39
<b>Figura 5.</b> Traçado densitométrico das frações protéicas do soro sanguíneo de vacas sadias da raça mestiça Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.....	46
<b>Figura 6.</b> Traçado densitométrico das frações protéicas do soro sanguíneo de vacas sadias da raça Nelore, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.....	47
<b>Figura 7.</b> Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da atividade sérica de aspartato aminotransferase (AST) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	50
<b>Figura 8.</b> Representação gráfica dos valores médios e desvios-padrão da concentração sérica de ureia (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....	54

- Figura 9.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina direta (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose ..... 57
- Figura 10.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de triglicérides (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose ..... 59
- Figura 11.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de colesterol (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose ..... 61
- Figura 12.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de cálcio ionizado (mMol/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose ..... 63
- Figura 13.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de fósforo (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose ..... 65

- Figura 14.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de albumina (g/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....69
- Figura 15.** Traçado densitométrico do proteinograma sérico de vacas da raça Nelore do grupo sororreagentes à brucelose, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, apresentando 25 frações protéicas .....70
- Figura 16.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de imunoglobulina A (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....72
- Figura 17.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de ceruloplasmina (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose .....73

## **PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE VACAS DAS RAÇAS NELORE E GIROLANDA SORORREAGENTES OU NÃO À BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE NO ESTADO DO MARANHÃO – BRASIL.**

**RESUMO** - O objetivo deste estudo foi determinar o perfil bioquímico sérico e o proteinograma de vacas da raça Nelore e mestiças Girolanda clinicamente sadias criadas no Estado do Maranhão e compará-los aos de vacas sororreagentes à brucelose e leptospirose. No experimento 1, avaliou-se a influência da raça sobre os parâmetros estudados em vacas Nelore e Girolanda não reagentes aos testes de brucelose e leptospirose; no experimento 2 três grupos experimentais (vacas negativas aos testes de brucelose e leptospirose, sororreagentes ao teste de brucelose e sororreagentes ao teste de leptospirose) foram avaliados. As atividades das enzimas AST, ALP, GGT e CK e os teores de uréia, creatinina, triglicérides, colesterol,  $\text{Ca}^{2+}$ , P,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e cálcio ionizado, bilirrubinas, proteína total (PT) e suas frações foram avaliadas em amostras de soro sanguíneo. No experimento 1, as atividades de AST, GGT e ALP e dos teores de PT, albumina, uréia, bilirrubina direta,  $\text{Ca}^{2+}$ , P e  $\text{Mg}^{2+}$  não diferiram entre as raças, enquanto teores de CK, bilirrubina indireta e total e creatinina foram superiores em vacas Nelore ( $87,5 \pm 56,3$  U/L,  $0,28 \pm 0,16$  mg/dL,  $0,19 \pm 0,15$  mg/dL,  $1,61 \pm 0,41$  mg/dL, respectivamente) quando comparadas às vacas Girolanda ( $68,6 \pm 43,4$  U/L,  $0,23 \pm 0,08$  mg/dL,  $0,14 \pm 0,09$  mg/dL,  $1,47 \pm 0,32$  mg/dL, respectivamente). No experimento 2, a atividade de AST nos grupos sororreagentes à brucelose ( $51,9 \pm 14,5$  U/L Nelore;  $56,6 \pm 12,1$  U/L Girolanda) e à leptospirose ( $53,3 \pm 12,4$  U/L Girolanda), foi inferior à dos animais sadios. As atividades séricas de ALP, GGT, CK e dos teores séricos de PT, creatinina, bilirrubina total, bilirrubina indireta,  $\text{Ca}^{2+}$ , P,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+$  não diferiram entre os grupos, enquanto as concentrações de uréia, bilirrubina direta, triglicérides, colesterol, cálcio ionizado e P diferiram. O proteinograma revelou concentração de IgA das vacas Nelore do grupo leptospirose, de ceruloplasmina das vacas Nelore do grupo brucelose e de albumina dos animais da raça Girolanda superiores àqueles dos grupos sadios para as respectivas raças.

**Palavras-chave:** bovinos, parâmetros bioquímicos, proteinograma, valores de referência

## SERUM BIOCHEMISTRY PROFILE OF NELLORE AND GIROLANDO COWS SEROPOSITIVE OR NOT TO BRUCELOSIS AND LEPTOSPIROSIS IN THE STATE OF MARANHÃO – BRAZIL.

**SUMMARY** - The aim of this study was to determine the biochemical profile and proteinogram of clinically healthy Nelore and Girolanda cows raised in the state of Maranhão, and compare them to the biochemical profiles of brucellosis and leptospirosis seropositive cows. In experiment 1, the breed influence on the biochemical parameters was evaluated in brucellosis and leptospirosis seronegative Nelore and Girolanda cows; in experiment 2, three experimental groups (seronegative cows, brucellosis seropositive and leptospirosis seropositive cows) were evaluated. The activities of the enzymes AST, ALP, GGT, CK and the levels of urea, creatinine, triglycerides, cholesterol,  $\text{Ca}^{2+}$ , P,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e ionized calcium, bilirubins, total protein (TP) and its fractions were evaluated in blood serum samples. In experiment 1, the activities of AST, GGT and ALP and the levels of TP, albumin, urea, direct bilirubin,  $\text{Ca}^{2+}$ , P and  $\text{Mg}^{2+}$  did not differ between breeds, while CK, indirect and total bilirubin, creatinine were higher in Nelore cows ( $87,5 \pm 56,3$  U/L,  $0,28 \pm 0,16$  mg/dL,  $0,19 \pm 0,15$  mg/dL,  $1,61 \pm 0,41$  mg/dL, respectively) when compared to Girolanda cows ( $68,6 \pm 43,4$  U/L,  $0,23 \pm 0,08$  mg/dL,  $0,14 \pm 0,09$  mg/dL,  $1,47 \pm 0,32$  mg/dL, respectively). In experiment 2, AST activity in the brucellosis seropositive cows ( $51,9 \pm 14,5$  U/L Nelore;  $56,6 \pm 12,1$  U/L Girolanda) and leptospirosis seropositive cows ( $53,3 \pm 12,4$  U/L Girolanda), were lower than in healthy animals. The serum activities of ALP, GGT, CK and serum levels of TP, creatinine, total and indirect bilirubin,  $\text{Ca}^{2+}$ , P,  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$  did not differ between groups, while serum concentrations of urea, direct bilirubin, triglycerides, cholesterol, ionized calcium and P were different. The proteinogram revealed that IgA levels in leptospirosis seropositive Nelore cows, ceruloplasmin in brucellosis seropositive Nelore cows and albumin in brucellosis seropositive Girolanda cows were higher than those of its respective breeds in the healthy groups.

**Keywords:** bovines, biochemical profile, proteinogram, reference values

## 1. INTRODUÇÃO

A população bovina brasileira está estimada em 204.513 mil cabeças, sendo o maior rebanho o da região Centro-Oeste, onde se encontra cerca de um terço do rebanho nacional. Da população bovina do Brasil, 3,88% está na região Norte, 5,12% no Nordeste, 6,73% no Sudeste, 7,17% no Sul e 56,2% no Centro-Oeste. No Nordeste, ainda predominam as criações extensivas, utilizadas para subsistência da população rural (IBGE, 2008).

O setor primário é responsável por aproximadamente 15% do PIB brasileiro, tendo papel fundamental no desenvolvimento econômico do país. A pecuária bovina é uma das atividades mais importantes do agronegócio brasileiro, com os segmentos de produção, industrialização e comercialização de carne, leite e seus derivados presentes em todo o território nacional, desempenhando um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população (GOMES et al., 2001).

Nesse contexto, o Estado do Maranhão, com um rebanho atual estimado em 6.944.992 de cabeças, distribuídas em 84.626 propriedades (AGED/MA, 2008), apresenta grande potencialidade para o desenvolvimento da exploração pecuária, no entanto, o valor médio de produção e produtividade do rebanho situa-se entre os mais baixos do país. Essa ineficiência na produção de carne e leite é influenciada por vários fatores, destacando-se aqueles relacionados à genética, à nutrição e ao manejo zootécnico-sanitário do rebanho. Nesse último, as doenças infectocontagiosas, particularmente as de caráter zoonótico, que direta ou indiretamente comprometem o trato reprodutivo da fêmea e do macho e também o feto, assumem papel relevante. Dentre essas enfermidades, destacam-se a leptospirose e a brucelose que ocorrem em todo o território nacional (BRASIL, 2007).

A leptospirose e a brucelose, além de serem zoonoses de distribuição mundial que acometem animais domésticos, silvestres e os seres humanos, são também limitantes para o crescimento dos rebanhos bovinos, reduzem a oferta de alimentos e

causam grandes prejuízos socioeconômicos e/ou de saúde pública em muitos países, especialmente naqueles que não implementaram programas de erradicação.

A situação da leptospirose e da brucelose bovina, no Estado do Maranhão apresenta dados bastante diferenciados face à dimensão territorial e às características de criação, próprias de cada região. A ocorrência das duas enfermidades, contudo, é registrada em todo o território estadual pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Esses dados, mesmo não produzidos de forma sistemática, confirmam por meio dos resultados de exames realizados pelos médicos veterinários, que essas zoonoses são, indiscutivelmente, um dos principais problemas sanitários do rebanho bovino no Estado.

A utilização de exames laboratoriais para auxiliar no diagnóstico dessas enfermidades é imprescindível, pois, em muitas condições patológicas, a avaliação clínica mediante o exame físico, por si só, muitas vezes não é suficiente para assegurar o diagnóstico.

Por essa razão, as provas bioquímicas séricas constituem excelente subsídio ao diagnóstico clínico de inúmeras enfermidades. No caso específico dos bovinos, quer sejam taurinos ou zebuínos, as provas bioquímicas séricas permitem determinar o prognóstico e avaliar a evolução e a gravidade das doenças, principalmente aquelas com repercussões no fígado e/ou rins e que, freqüentemente, alteram as funções desses órgãos.

Freqüentemente, na rotina clínica, estes exames são usados na avaliação do estado nutricional, alterações patológicas teciduais e metabólicas que ocorrem nas diversas enfermidades; todavia, para que se possa empregar em sua plenitude o resultado de tais exames, faz-se necessário dispor de valores de referência dos bovinos da região. Valores bioquímicos sanguíneos obtidos em outros países podem não ser aplicáveis às condições brasileiras em razão das diferenças raciais, climáticas, manejos e metodologias utilizadas pelos pesquisadores (MUNDIM, 2008). Nos casos em que esses dados não estiverem disponíveis, os valores referenciais utilizados pelos profissionais da medicina veterinária devem ser de zonas climáticas e grupos de animais similares (GONZALÉZ & SCHEFFER, 2002).

Apesar da importância mencionada por diferentes autores nacionais e estrangeiros, são escassas as informações sobre o que é padrão nas diversas circunstâncias em que os bovinos são criados e em seus diversos estágios de desenvolvimento.

Considerando-se que o Maranhão apresenta um dos mais baixos índices de desenvolvimento humano do Brasil, e que a bovinocultura apresenta-se como atividade de grande importância social, o estudo das diferentes formas de melhoria sanitária do rebanho contribuirá com o desenvolvimento humano e, conseqüentemente, do Estado. Outra justificativa relevante para esta pesquisa é a inexistência de informações a respeito dos valores bioquímicos do rebanho bovino maranhense, o que dificulta a interpretação dos achados clínicos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Considerações sobre a brucelose bovina

Historicamente, a brucelose teve sua gênese elucidada em 1886, na Ilha de Malta, pelo pesquisador David Bruce, ao isolar o *Micrococos melitensis* a partir do baço de soldados ingleses, acometidos pela chamada febre de Malta, e que se alimentavam com leite de cabras. Em 1895, o professor Benhard Bang, patologista veterinário dinamarquês, descreveu um novo agente em bovinos, denominado de *Bacillus abortus*. Posteriormente, por volta de 1920, Mayer e Shaw sugeriram a criação do gênero *Brucella*, em homenagem a David Bruce, recebendo o microrganismo então o nome de *Brucella abortus* (NICOLETTI, 2002).

A brucelose apresenta-se distribuída mundialmente sendo de maior importância econômica nos países em desenvolvimento, especialmente aqueles que não implementaram programas de erradicação. Diversos países da Europa e do Japão alcançaram considerável progresso no combate à doença com programas sistemáticos de erradicação. Entretanto, a enfermidade ainda ocorre na maior parte da América Latina, especialmente em países com grandes rebanhos, como Argentina, Brasil e México (ACHA & SZYFRES, 2001).

A brucelose bovina é uma antropozoonose de evolução crônica, caracterizada pela infecção das células do sistema mononuclear fagocitário, causada por uma bactéria do gênero *Brucella*, constituído por seis espécies independentes; mesmo não sendo espécie-específica, cada uma apresenta um hospedeiro preferencial: *Brucella melitensis* – caprinos; *B. suis* – suínos; *B. ovis* – ovinos; *B. canis* – cães; *B. neotomae* – rato do deserto; e *B. abortus* - bovinos e bubalinos (METCALF et al., 1994).

As bactérias da espécie *Brucella* são cocobacilos, Gram-negativos, imóveis, não apresentam cápsulas, não formam esporos ou apresentam flagelo (DOGANAY & AYGEN, 2003). Podem apresentar-se em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estrita ou mucóide). Essa morfologia relaciona-se diretamente

com a composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular e, para algumas espécies, tem relação com a virulência; quando colônias lisas evoluem para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas (BRASIL, 2006).

A capacidade de sobrevivência da *Brucella* em condições naturais é grande se comparada a de outras bactérias patogênicas não esporuladas, tornando-se uma importante fonte de disseminação da enfermidade nas mais variadas espécies. A bactéria pode sobreviver 60 dias no solo, sobretudo em ambiente úmido ao abrigo da luz solar e contendo matéria orgânica; em pH neutro, até 180 dias no material fecal, 75 dias em fetos abortados e 200 dias em exsudatos placentários (PAULIN, 2003).

As brucelas penetram no organismo hospedeiro pelas mucosas do trato digestório, genital ou nasal, conjuntiva ocular ou por soluções de continuidade da pele (OSÓRIO & MONTEIRO, 2006; ORLANDELLI, 2008). São fagocitadas pelos macrófagos, multiplicam-se nos linfonodos regionais, caem na corrente sanguínea (dentro de macrófagos ou livres) chegando ao baço, fígado, linfonodos (supramamários) (GUIDO & GRASSO, 2005; PACHECO, 2007). Podem acarretar alterações inflamatórias e anatomopatológicas caracterizadas por granulomas difusos, levando à esplenomegalia, hepatomegalia e, às vezes, à hiperplasia linfóide (PAULIN, 2003).

A infecção por *Brucella* sp induz nos animais susceptíveis uma resposta imune de natureza humoral e celular, caracterizada pela presença de IgM, que atinge picos elevados duas semanas pós-infecção; posteriormente, há formação de IgG, que atinge altos níveis em um a dois meses, tornando-se os principais anticorpos detectáveis (MOLNAR et al., 1997).

Embora o hospedeiro preferencial seja o bovino, a *B. abortus* pode infectar outras espécies de animais domésticos e silvestres, incluindo os equídeos, suínos, ovinos, caprinos, bubalinos e cães. As espécies silvestres, principalmente as biunguladas, são reservatórios naturais e desempenham papel importante na epidemiologia da doença, mantendo o agente no ambiente silvestre (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003).

Os bovinos são suscetíveis à *B. melitensis* e *B. suis*, mas a espécie mais importante para os bovinos e a responsável pela maior parte das infecções é a *B.*

*abortus*, comprometendo especialmente o sistema reprodutivo, ocasionando, frequentemente, abortamento no terço final da gestação (BRASIL/MAPA, 2001). Nos touros, a infecção se localiza nos testículos, vesículas seminais e próstata. A bactéria é transmitida principalmente pelo consumo de alimentos contaminados, água e leite ou pelo contato direto com animais infectados, que eliminam o microrganismo por diversas vias, sobretudo pelo leite e pela secreção uterina. A bactéria é encontrada em alta concentração no material abortado e na placenta. Animais também contraem a doença em ambientes contaminados, como pastos e estábulos (ROXO, 2000).

O período de incubação é variável, de 14 a 180 dias, e inversamente proporcional ao desenvolvimento do feto, demonstrado em infecções experimentais, sendo difícil identificá-lo em infecções naturais, pois não se pode determinar o momento da infecção (OSÓRIO & MONTEIRO, 2006).

As perdas diretas provocadas pela brucelose bovina estão relacionadas aos abortamentos, aumento dos intervalos entre partos, baixa fertilidade, diminuição da produção de carne e leite. Em decorrência da infecção, estimativas mostram redução de 10% a 15 % na produção de carne, aumento do intervalo de partos de 11,5 meses para 20 meses, aumento de 30% na taxa de reposição dos animais, queda de 15% no nascimento de bezerros e queda de 10% a 24% na produção leiteira, além de ser uma importante barreira sanitária ao agronegócio internacional, de acordo com o Código Sanitário para os Animais Terrestres (PAULIN, 2003).

No Brasil, a brucelose ocorre, endemicamente, em todo território nacional, com prevalências variáveis entre os estados e regiões, levantadas nos inquéritos epidemiológicos e nos diagnósticos sorológicos (BRASIL, 2004). A doença é de notificação obrigatória, em decorrência das implicações no comércio internacional, de animais e produtos de origem animal, aos enormes prejuízos que provocam à pecuária, como aborto entre o 7º e 9º meses de gestação, queda na produção de leite e carne, redução da fertilidade, necessidade de descarte de animais infectados, nascimentos de bezerros fracos etc., e também aos males que causa à saúde humana (OIE, 2006).

Em 1975, o Ministério da Agricultura promoveu o primeiro levantamento nacional, por meio de um inquérito soroepidemiológico por amostragem. Nesse inquérito, foram verificadas as seguintes prevalências em animais, por regiões: Sul, 4%; Sudeste, 7,5%; Centro-Oeste, 6,8%; Nordeste, 2,5% e Norte, 4,1% (POESTER et al., 2002; BRASIL, 2006).

Na Região Nordeste, constatou-se positividade para a brucelose em animais de vários rebanhos, sendo sua prevalência baixa em Alagoas (NUNES, 2001), Rio Grande de Norte (SOUZA et al., 1999) e Paraíba (LEITE et al., 2003). No Estado do Maranhão, segundo levantamento realizado pelo Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA/MA), em 2005, foram examinados 186.732 animais, dos quais 14.192 (7,60%) foram positivos à prova do antígeno acidificado tamponado (AAT), e das 3.270 propriedades envolvidas no estudo, 959 (29,33%) apresentaram animais soropositivos. Está em andamento o Inquérito soroepidemiológico da brucelose bovina proposto pelo MAPA, que será executado pela Agência de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED/MA), órgão oficial de defesa.

No ser humano, a doença está relacionada com a prevalência da infecção nos reservatórios animais. A espécie mais patogênica e invasora para humanos é a *B. melitensis*, seguida pela *B. suis* (exceto pelo biovar 2), *B. abortus* e *B. canis*, sendo que a *B. ovis* e *B. neotomae* não foram detectadas. As infecções por *B. abortus* e *B. suis* ocorrem com maior frequência em grupos ocupacionais, como veterinários, tratadores, magarefes e laboratoristas (ACHA & SZYFRES, 2001; BRASIL, 2001).

No Brasil, os levantamentos soroepidemiológicos, embora escassos, indicam a ocorrência de brucelose humana em diversas partes do país e em diferentes grupos ocupacionais, constatando ainda a importância dos fatores de riscos associados à transmissão da doença. Na região Nordeste, LACERDA (2000) encontraram 10,17% de indivíduos positivos, em dois matadouros do município de São Luis-MA. Ainda nesse município, vários autores trabalharam com amostras de soro de funcionários do matadouro industrial de São Luis-MA, em anos diferentes, encontraram os seguintes resultados: 1,74% (MENDES, 1994) e 1,5% (CARDOSO, 1999) de indivíduos positivos. Trabalhando ainda com humanos no Município de Imperatriz-MA, AKASHI (1998) encontrou 14,6% de soropositividade.

Para o diagnóstico da brucelose, os testes sorológicos constituem a ferramenta mais utilizada nos programas de controle capazes de reduzir a ocorrência de resultados falso-negativos e falso-positivos (MATHIAS et al., 1995).

Diversos são os métodos utilizados no sorodiagnóstico da brucelose bovina, sendo variáveis em sensibilidade e especificidade. Dentre esses, soroaglutinação lenta em tubos (SLT), soro glutinação rápida em placa (SRP), 2-mercaptoetanol (2-ME), antígeno acidificado tamponado (AAT), rivanol (RIV), fixação de complemento (FC), imunodifusão em gel de ágar (IDGA) (NIELSEN, 2002). Portanto, a seleção de provas sorológicas em programas de controle, erradicação ou estudo de prevalência da brucelose é bastante diversificada, levando-se em conta, na escolha dos testes a serem aplicados, as suas características intrínsecas, o custo, a praticidade de execução e a situação epidemiológica na região (PAULIN, 2006).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), instituído no Brasil em 11 de janeiro de 2001, com o objetivo de reduzir a prevalência dessas enfermidades, preconiza a utilização da prova do antígeno acidificado tamponado (AAT) como método de triagem para brucelose, tendo como método confirmatório o 2-ME ou a FC. No trânsito internacional é exigida a FC (BRASIL, 2006).

Recentemente, um novo teste foi desenvolvido para o sorodiagnóstico da brucelose em diversas espécies: o teste da polarização fluorescente (FPA). O FPA é uma prova de simples execução, em que apenas o antígeno, com um indicador, é adicionado nas amostras diluídas. O teste também é rápido, pois não requer lavagens intermediárias dos reagentes. Como é executado em um equipamento de características portáteis, pode ser feito em um laboratório com condições mínimas (SAMARTINO, 1999). O FPA apresenta boa acurácia quanto à detecção de anticorpos de infecção e não de vacina e pode ser utilizado como confirmatório (OMS, 1986). Além disso, requer volumes menores de soro que os demais métodos sorológicos e é menos afetado pela hemólise (NIELSEN et al., 2001).

Diversos países da América já validaram a técnica da FPA como teste confirmatório para o diagnóstico da brucelose, no entanto, no Brasil, pesquisas estão sendo concluídas, objetivando sua validação pelo Ministério da Agricultura, Pecuária

e Abastecimento e sua incorporação no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), para subsidiar os programas de erradicação dessa zoonose.

O controle de brucelose animal é muito importante para a prevenção de infecção bovina e humana, em conexão com o uso de leite e derivados pasteurizados (DOGANAY & AYGEM, 2003). Produtos lácteos não pasteurizados constituem fatores de risco em decorrência da eliminação de *Brucella* pelo leite (BOTELHO et al., 2000).

O objetivo das medidas de controle e erradicação é interromper a transmissão da doença por meio de ações sanitárias específicas voltadas à eliminação das fontes de infecção, das vias de transmissão e de animais suscetíveis, além de medidas que inibam a movimentação de animais e anulem possíveis reservatórios (PAULIN & FERREIRA NETO, 2003). Conforme preconiza o PNCEBT, o controle da brucelose bovina apoia-se basicamente na vacinação massal de fêmeas entre 3 a 8 meses de idade, no sorodiagnóstico da doença e no sacrifício dos animais positivos.

## **2.2 Considerações sobre a leptospirose bovina**

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial, de curso agudo a crônico, que acomete animais domésticos, silvestres e o ser humano, assumindo um forte significado social, econômico e cultural.

A enfermidade foi descrita pela primeira vez em 1880, no Cairo, por Larrey, e posteriormente em 1883, por Landonzy. Porém o primeiro a descrever o quadro clínico da doença no homem foi Weil, em 1886, na Alemanha (CORRÊA & CORRÊA, 1994), o qual caracterizou minuciosamente o quadro por febre, icterícia e hemorragia, podendo ocorrer ainda comprometimento renal e hepático. Depois, por sugestão de Goldschmidt, tal enfermidade passou a ser denominada de doença de Weil (CALDAS et al., 1992).

O agente etiológico da leptospirose pertence à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae, gênero *Leptospira*. Inicialmente, o gênero *Leptospira* era dividido em

duas espécies, sendo as patogênicas classificadas como *L. interrogans latu sensu*, composta por mais de 200 sorovares (variantes), de acordo com métodos sorológicos, e as saprófitas *L. biflexa*, que compreende cerca de 60 sorovares. Atualmente, por processo de genotipagem as *Leptospiras* foram reclassificadas em 16 genomespécies, não mais em duas como anteriormente, já que sorovares patogênicos e não patogênicos podem estar dentro de uma mesma espécie. As principais genomespécies são *L. interrogans stricto sensu*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *L. biflexa*, *L. fainei*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri*, *L. weilli*, *L. inadai*, *L. parva*, *L. alexanderi* (LEVETT, 2001).

As leptospiras são bactérias filamentosas, helicoidais, muito delgadas (0,1 µm de diâmetro) com comprimento variável de 6 a 20 µm, aeróbias obrigatórias, que apresentam uma ou ambas as extremidades encurvadas ou em forma de gancho, dotados de grande motilidade conferida por um axóstilo. Crescem muito bem em temperaturas de 28°C a 30°C, em meio enriquecidos. O seu tempo de geração está situado em torno de 7 a 12 horas, produzem catalase e oxidase, não são coradas por corantes usuais em microbiologia, somente por impregnação pela prata e são visualizadas em microscopia de campo escuro (ELLIS, 1998; FAINE et al., 1999).

No ambiente, as *Leptospiras* sobrevivem bem em terrenos úmidos, pântanos, córregos, lagos e estábulos com excesso de detritos e umidade. São sensíveis ao pH ácido de 6,8 ou menos, porém sua multiplicação é ótima em pH levemente alcalino, compreendido entre 7,2 e 7,4, e em temperaturas de 10°C a 34 °C (BRASIL, 1995).

A leptospirose tem uma vasta distribuição geográfica, é evidenciada em todo o mundo, mas sua ocorrência é fortemente favorecida pelas condições ambientais das regiões de clima tropical e subtropical, onde a elevada temperatura e os períodos do ano com altos índices pluviométricos favorecem o aparecimento de surtos epidêmicos de caráter sazonal (LEVETT, 2001; ACHA & SZYFRES, 2001). No Brasil, a leptospirose é endêmica e está presente no rebanho bovino em quase todos os Estados da federação. Os sorovares detectados em bovinos estão restritos a Hardjo (genótipo Hardjoprajitno), Pomona, Icterohaemorrhagiae, Wolffi, Goiano e Guaicurus (ARAÚJO et al., 2005). A infecção ocorre todos os meses do ano, principalmente nos meses em que se registram índices pluviométricos elevados, associados à presença

de roedores, mamíferos silvestres e domésticos, bem como águas represadas com altas concentrações de animais (CORRÊA & CORRÊA, 1994; BRASIL, 2007).

Quanto à ocorrência da leptospirose na Região Nordeste, constatou-se soroprevalência baixa nos Estados de Alagoas (0,32%), Paraíba (0,25%), Maranhão (1,18%), Piauí (0,71%), Ceará (0,38%), Bahia (2,10%) e Rio Grande do Norte (0,11%) (FÁVERO et al., 2001).

No Estado do Maranhão, há registros em bovinos, caninos, ovinos e humanos reagentes a leptospirosas (MACEDO et al., 1996; COSTA Jr. et al., 2004).

Os reservatórios das leptospirosas são os animais domésticos, silvestres e sinantrópicos. Os mais importantes reservatórios domésticos são os bovinos, suínos, equinos, caninos, ovinos e caprinos. No entanto, em ecossistemas rurais e urbanos, o principal reservatório da leptospirose é constituído pelos roedores sinantrópicos, entre os quais o *Rattus norvegicus* (ratazana) ocupa, no mundo todo, uma posição de destaque, pois possuem facilidade de deslocamento, não revelam sinais de infecção, comportando-se como portadores saudáveis, albergam as leptospirosas nos rins, e as eliminam no meio ambiente, contaminando assim a água, o solo e os alimentos. As fontes de infecção são constituídas pelos reservatórios e portadores (assintomáticos e convalescentes) (BRASIL, 1995).

A principal via de eliminação das leptospirosas é a urina infectada, entretanto, nos bovinos, a eliminação do agente também pode ocorrer por descargas uterinas pós-abortamento, feto ou placenta infectada, corrimentos vaginais e sêmen (ELLIS, 1994).

A leptospirose em humanos é vista como uma doença ocupacional que afeta cortadores de cana-de-açúcar, limpadores de esgotos, plantadores de arroz, magarefes, mineiros, veterinários e fazendeiros. Sendo assim, em área urbana, os grupos populacionais mais expostos são aqueles que trabalham ou vivem em locais sujeitos a enchentes, em precárias condições de moradia e/ou sem saneamento, em contato com água ou lama e/ou esgotos contaminados pela urina de roedores infectados. Pelo convívio com os animais e por se expor ao meio ambiente, o habitante da área rural também está sujeito a contrair a leptospirose (BRASIL, 1995).

A patogenia da leptospira inclui a penetração ativa dos microrganismos pelas mucosas, pele escarificada e mesmo integra. Vencidas as barreiras da porta de entrada, as leptospiras percorrem as vias linfáticas e sanguíneas, atingindo o pulmão, fígado e baço, onde se multiplicam por aproximadamente uma semana, fase denominada leptospiremia, quando ocorre o estágio febril. Nos órgãos, há lesão das membranas das células endoteliais de pequenos vasos, principalmente pela ação de toxinas, levando a extravasamento sanguíneo e hemorragia (BRASIL, 1995).

Subsequentemente, inicia-se a produção de anticorpos, que promovem a eliminação de leptospiras dos tecidos por fagocitose. Entretanto, leptospiras localizadas em locais protegidos do sistema imune, como rins e trato genital, podem persistir por períodos prolongados. A persistência de leptospiras nos rins pode ocasionar desde pequenos infiltrados inflamatórios focais a extensas lesões, caracterizadas por necrose celular, atrofia tubular e hemorragia renal, seguida de cicatrização e localização de leptospiras na superfície luminal das células tubulares. A ausência de fagócitos na urina permite a multiplicação desses microrganismos nos túbulos contornados renais formando microcolônias. A partir daí, as leptospiras passam a ser eliminadas na urina (leptospirúria) por períodos variáveis de dias a anos. Tal fato explica a existência de portadores renais, fator primordial na epidemiologia da leptospirose, em que a transmissão ocorre pela exposição à urina de animais infectados ou aos ambientes contaminados por ela (PLANK & DEAN, 2000).

Os bovinos são infectados pelos sorovares Hardjo, Pomona, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae. O sorovar Hardjo tem sido considerado como o mais adaptado à espécie bovina. Dois genótipos do sorovar Hardjo são encontrados nos ruminantes Hardjobovis e Hardjoprajitno. Hardjobovis ocorre com maior frequência na Nova Zelândia, Austrália e Holanda (FAINE et al., 1999), sendo eliminado em maiores quantidades pela urina, enquanto Hardjoprajitno tem sido relatado no Reino Unido, Nigéria, Índia, Malásia, Brasil, México e nos Estados Unidos da América (AGUIAR, 2004). A infecção por esse sorovar independe de estações chuvosas e sistema de criações (ELLIS, 1994; COSTA et al., 1998).

Os sinais clínicos da leptospirose em bovinos são muito variados, incluindo febre, diarreia, anemia, icterícia e hemoglobinúria. As infecções agudas, algumas vezes, resultam em infertilidade, abortamentos, natimortalidade, nascimento de bezerros fracos e mastite (ELLIS, 1994).

O diagnóstico da leptospirose pode ser confirmado por diferentes métodos laboratoriais baseados na detecção de anticorpos, na detecção direta ou indireta do agente ou do material genético da bactéria na urina ou nos tecidos (FAINE et al., 1999).

Entre as técnicas de diagnóstico baseadas na detecção de anticorpos, a prova de soroprecipitação microscópica (SAM) é o método de referência preconizado pela Organização Mundial de Saúde (FAINE et al., 1999). Esse teste é baseado principalmente na reação entre antígenos de natureza lipopolissacarídica, encontrados na superfície das leptospiros e os respectivos anticorpos (BALDWIN & ATKINS, 1987). O levantamento sorológico deve ser planejado, para que os intervalos entre a vacinação e a colheita de amostras de sangue respeitem 90 dias para suínos e 120 para bovinos (VASCONCELLOS, 2004).

O diagnóstico sorológico pelo teste de ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática) também tem sido utilizado, apresentando como vantagens a utilização apenas de frações bacterianas, não necessitando do antígeno vivo e a possibilidade de detectar especificamente anticorpos da classe IgM ou IgG, podendo, assim, correlacionar os resultados com o tempo de infecção (YAN et al., 1999).

As leptospiros podem ser detectadas na urina e nos órgãos por provas que utilizam a interação entre antígenos e anticorpos marcados, como a imunofluorescência e a imunoperoxidase (BASKERVILE, 1986).

Entre as técnicas de diagnóstico baseadas na detecção do DNA das leptospiros, a reação em cadeia de polimerase (PCR) vem sendo utilizada de forma crescente para o diagnóstico da leptospirose em fluidos orgânicos e órgãos de várias espécies animais (HEINEMANN et al., 1999).

Para prevenir a doença clínica e as perdas econômicas, e minimizar o risco de infecção humana é necessário o controle da leptospirose. Na prática veterinária, a prevenção baseia-se na vacinação sistemática do rebanho, tratamento de animais

doentes com antibioticoterapia, controle dos roedores nas propriedades e eliminação de excesso de água do ambiente (DE NARDI, 2005).

A proteção específica dos animais susceptíveis é obtida com o uso de vacinas inativadas que contenham os sorovares de leptospiras presentes na região (SALLES & LILENBAUM, 2006). Porém, o uso da vacinação é um entrave para o diagnóstico sorológico da leptospirose, já que os anticorpos pós-vacinais podem persistir por até seis meses, dificultando a diferenciação de títulos vacinais de reações oriundas de infecção (FREUDENSTEIN & HEIN, 1991).

### **2.3 Perfil bioquímico sérico**

Os perfis bioquímicos séricos constituem excelentes subsídios ao diagnóstico de distúrbios metabólicos, pois refletem a integridade celular e a função orgânica, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação dos animais diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos ou de origem nutricional (GONZALEZ & SHEFFER, 2002).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, em virtude dos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólicos. A característica do ambiente, os diferentes fatores climáticos, raciais e sexuais e, principalmente, a natureza da relação estabelecida entre os agentes infecciosos e seus hospedeiros podem, em muitos casos, influenciar os valores dos constituintes sanguíneos (PIZZUTI & SALVATORI, 1993; GONZALEZ & SHEFFER, 2002).

O estudo das concentrações sanguíneas de indicadores de função hepática, renal e dos eletrólitos é fundamental para nortear as abordagens terapêuticas, diagnósticas e as pesquisas na área da bioquímica clínica veterinária, e o estabelecimento de parâmetros de normalidade é essencial para o entendimento dos distúrbios fisiopatológicos que ocorrem nas enfermidades.

Os componentes bioquímicos sanguíneos rotineiramente determinados representam as principais vias metabólicas do organismo, das quais a glicose, o

colesterol, os triglicérides e o beta-hidroxibutirato representam o metabolismo energético; ureia, hemoglobina, globulinas, albuminas, proteínas totais e ácido úrico representam o metabolismo proteico; cálcio, fósforo inorgânico, magnésio, sódio e potássio representam os macrominerais (WITTWER & CONTRERAS, 1980). Adicionalmente são estudados indicadores do funcionamento hepatobiliar, como as enzimas aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), gamaglutamiltransferase (GGT), bem como a albumina e o colesterol (GONZALEZ, 1992).

Para melhor compreensão dos resultados e discussão deste trabalho, são descritos a seguir, de forma breve, os aspectos mais importantes dos constituintes bioquímicos séricos determinados na pesquisa, compulsados na literatura.

### **2.3.1 Concentração sérica de colesterol e triglicérides**

Os lipídios encontrados no plasma sanguíneo são divididos em três grandes grupos: colesterol, fosfolipídios e triglicérides (KANEKO et al., 2008). Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídios no plasma, pois correspondem a aproximadamente 30% do total (GONZALEZ & SHEFFER, 2002), e têm importantes funções no organismo, tais como fazer parte da estrutura das membranas celulares, como fonte energética na síntese de hormônios e como protetores de vísceras. A maior parte do colesterol utilizado na síntese de hormônios é obtida por meio do metabolismo hepático (BRUSS, 1997). Os triglicérides são ácidos graxos de cadeia longa, sintetizados em diversos tecidos, de acordo com a espécie, porém, somente o fígado, o tecido adiposo e a glândula mamária o produzem em larga escala (KANEKO et al., 2008); portanto, o fígado desempenha papel fundamental no metabolismo dos lipídios dos bovinos, podendo algumas determinações serem utilizadas para avaliar o estado de saúde desse órgão.

MANCIO (1994) relatou, para bovinos sadios, valores de colesterol iguais a 118,5 mg/dL, enquanto OLIVEIRA (1995) verificou que os valores de colesterol para novilhas oscilavam entre 94 e 108 mg/dL.

SMITH (2009) considerou normais teores de colesterol que oscilassem entre 90 e 170 mg/dL, enquanto KANEKO et al. (2008) considera que os teores séricos de colesterol adequados para bovinos sadios oscilam entre 80 e 120 mg/dL.

Quanto aos teores séricos de triglicérides, segundo KANEKO et al. (2008) são considerados adequados valores que oscilam entre 0 e 14 mg/dL.

### **2.3.2 Concentração sérica de uréia e creatinina**

A função renal exerce importante papel na manutenção da homeostasia corporal e controle da maior parte dos constituintes dos líquidos orgânicos. Os rins identificam quando há deficiência ou excesso de água e eletrólitos específicos, e respondem alterando o ritmo de reabsorção ou secreção dessas substâncias em momentos de balanço corpóreo negativo e positivo, respectivamente, podendo, então, por intermédio desses mecanismos, produzirem urina concentrada ou diluída em relação ao plasma, conforme as circunstâncias que a permitem (KANEKO et al., 2008). Outra função importante dos rins é eliminar as substâncias tóxicas pela filtração sanguínea (ureia, ácido úrico, creatinina, fosfatos, sulfatos e o excesso de ácidos) (CINGOLANI et al., 2004). Portanto, para compreender o bom funcionamento renal é importante avaliar sua capacidade de excreção por meio da concentração sérica de ureia e creatinina.

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen. A concentração sérica de ureia está relacionada com o conteúdo de proteína da dieta e com a função renal. Dessa forma, a elevação do teor sanguíneo de ureia pode refletir tanto maior catabolismo proteico quanto menor excreção do catabólito na urina. Fatores extrarrenais que reduzem as concentrações de ureia sanguínea incluem a atividade de hormônios esteroides, o menor catabolismo proteico e a insuficiência hepática grave (KANEKO et al., 2008).

A creatinina é um produto nitrogenado não proteico formado durante o metabolismo muscular da creatina e fosfocreatina. De forma semelhante à ureia,

uma redução na taxa de filtração glomerular (TFG) aumenta a concentração sérica de creatinina, que é afetada pelos mesmos fatores pré-renais, renais e pós-renais que influenciam a concentração sérica de ureia (MEYER et al., 1995).

BARROS FILHO et al. (1994) estudaram os teores séricos de ureia e creatinina pelo método de Lutsgarten e Wenk em 32 fêmeas bovinas da raça Canchim criadas em São Paulo, com idade variando entre 3 e 10 anos. Os valores médios encontrados para a ureia e a creatinina foram, respectivamente,  $25,05 \pm 5,77$  mg/dL e  $1,61 \pm 0,18$  mg/dL.

Ainda no Estado de São Paulo, em experimento realizado com 25 zebuínos da raça Nelore, com idade entre 24 e 72 meses, AYRES (1994) determinaram valores padrões de referência para uréia e creatinina pelo sistema Reflotron e obtiveram os seguintes valores:  $28,83 \pm 6,12$  mg/dL para uréia e  $1,56 \pm 0,31$  mg/dL para creatinina.

Em outro experimento, realizado em São Paulo, com fêmeas bovinas da raça Nelore, com 24 a 36 meses de idade, BARROS FILHO (1995) determinaram os teores séricos de ureia e creatinina e encontraram os valores médios de  $27,57 \pm 9,56$  mg/dL e  $1,65 \pm 0,20$  mg/dL, respectivamente.

Ao avaliar o perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, com 24 a 48 meses de idade, criados também no Estado de São Paulo, SOUZA (1997) constatou para os teores de ureia, respectivamente:  $28,4 \pm 2,82$  mg/dL,  $27,0 \pm 2,53$  mg/dL e  $28,8 \pm 1,88$  mg/dL; e para concentração de creatinina, respectivamente:  $2,50 \pm 0,61$  mg/dL,  $1,63 \pm 0,04$  mg/dL e  $1,25 \pm 0,03$  mg/dL.

Objetivando determinar valores de referências em fêmeas e machos bovinos e bubalinos, lactentes, desmamados e adultos, FAGLIARI et al. (1998) obtiveram valores médios de uréia igual a  $15,81 \pm 3,63$  mg/dL e  $18,76 \pm 6,85$  mg/dL, em fêmeas bovinas das raças Nelore e Holandesa, respectivamente. Ainda no mesmo estudo, constaram teores séricos de creatinina de  $1,68 \pm 0,33$  mg/dL e  $1,73 \pm 0,32$  mg/dL para os mesmos grupos de animais.

GREGORY et al. (2004) dosaram os teores séricos de uréia e creatinina de bovinos da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo, considerando-se a influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos, encontrando para fêmeas bovinas com idade superior a 24 meses e

sororreagentes valores médios de  $29,39 \pm 11,76$  mg/dL e  $1,42 \pm 0,18$  mg/dL, respectivamente.

De acordo com KANEKO et al. (2008) as concentrações séricas normais de ureia encontram-se entre 12 e 65 mg/dL, e de creatinina entre 0,8 e 1,4 mg/dL.

### **2.3.3 Concentrações séricas de bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta**

A maior parte da bilirrubina do plasma deriva da degradação da hemoglobina presente nas hemácias após elas terem sido destruídas pelo sistema retículo endotelial. A bilirrubina restante tem origem na degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na medula óssea. A bilirrubina produzida no sistema retículo endotelial é lançada ao plasma ligando-se rapidamente à albumina; esse complexo é denominado bilirrubina não conjugada (bilirrubina indireta), a qual é transportada pela circulação sanguínea, até o fígado, onde é desligada da albumina e conjugada ao ácido glicurônico, sendo secretada pelo sistema biliar sob a forma de bilirrubina conjugada (bilirrubina direta) (GONZÁLEZ & SILVA, 2007). A bilirrubina conjugada é excretada na bile e convertida em urobilinogênio pela ação de bactérias intestinais, e finalmente, é convertida em estercobilinogênio; parte do urobilinogênio formado é absorvido pela mucosa intestinal e excretado novamente pelo fígado, sendo que uma pequena parte que atingiu a circulação sanguínea é excretada pelo trato urinário sob a forma de urobilina (THRALL, 2007).

Os dois tipos de bilirrubina estão presentes na circulação e a distinção entre elas é importante para diferenciar as hiperbilirrubinemias conjugadas, das hiperbilirrubinemias livres. As conjugadas estão associadas principalmente a problemas hepáticos, em virtude de doença infecciosa, dano tóxico ou obstrução do trato biliar, enquanto que as hiperbilirrubinemias livres são resultantes, geralmente, da superprodução de bilirrubina (resultante de hemólise, por exemplo), ou por deficiência no suprimento de sangue ao fígado (insuficiências cardíacas) ou ainda por deficiência no mecanismo de conjugação (jejum). Já o aumento simultâneo das

bilirrubinas diretas e indiretas ocorre nas lesões hepato-celulares (GONZÁLEZ & SILVA, 2007).

Diminuições dos níveis séricos de bilirrubina são observadas em doenças crônicas, principalmente as que cursam com diminuição da formação dos eritrócitos, causando anemia. Portanto, a hipobilirrubinemia é devida a anemias hipoproliferativas (arregenerativas) atribuídas a uma infecção ou inflamação crônica, à neoplasia maligna ou na última fase da enfermidade renal (GONZÁLEZ & SILVA, 2007).

A determinação da bilirrubina total (BT) ocorre por meio do somatório das bilirrubinas direta e indireta. O aumento da bilirrubina total pode ocorrer em enfermidades que levem à grande destruição de eritrócitos, doença hepatobiliar primária ou obstrução hepática, impedindo a eliminação de bile, podendo ser pré-hepática, intra-hepática ou extra-hepática (MEYER et al., 1992).

MEYER et al. (1992), trabalhando com bovinos criados nos EUA, relataram para as bilirrubina totais, direta e indireta, concentrações de 0,1 a 0,5 mg/dL, 0,04 a 0,14 mg/dL e 0 a 0,3 mg/dL, respectivamente.

BARROS FILHO et al. (1994) determinaram teores de bilirrubinas séricas de 32 fêmeas da raça Canchim adultas, criadas em São Paulo, obtendo os seguintes resultados: bilirrubina total,  $0,40 \pm 0,20$  mg/dL; bilirrubina direta,  $0,13 \pm 0,09$  mg/dL e bilirrubina indireta,  $0,26 \pm 0,16$  mg/dL.

SOUZA (1997) não verificou diferenças significativas nos teores de bilirrubinas séricas de bovinos das raças Gir e Girolanda, com idade de 24 a 48 meses, criados também no Estado de São Paulo. Os valores obtidos foram: bilirrubina total -  $0,38 \pm 0,02$  mg/dL e  $0,34 \pm 0,02$  mg/dL; bilirrubina direta -  $0,08 \pm 0,01$  mg/dL e  $0,06 \pm 0,01$  mg/dL; bilirrubina indireta -  $0,30 \pm 0,02$  mg/dL e  $0,28 \pm 0,02$  mg/dL para as raças Gir e Girolanda, respectivamente.

Em outro experimento realizado em São Paulo com fêmeas bovinas da raça Nelore, com idade entre 24 e 36 meses, BARROS FILHO (1995) determinaram os teores de bilirrubinas séricas e encontraram os valores médios de bilirrubina total,  $0,42 \pm 0,21$  mg/dL; bilirrubina direta,  $0,09 \pm 0,08$  mg/dL; bilirrubina indireta,  $0,33 \pm 0,26$  mg/dL. Com o mesmo objetivo, FAGLIARI et al. (1998) obtiveram valores médios de

bilirrubina total sérica de  $0,36 \pm 0,14$  mg/dL e  $0,42 \pm 0,13$  mg/dL em fêmeas bovinas das raças Nelore e Holandesa, respectivamente.

Segundo KANEKO et al. (2008), em bovinos adultos, os valores normais situam-se entre 0,01 e 0,50 mg/dL (bilirrubina total); 0,04 e 0,44 mg/dL (bilirrubina direta) e 0,03mg/dL (bilirrubina indireta).

#### **2.3.4 Atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase (AST), creatinocinase (CK), fosfatase alcalina (FA) e gamaglutamiltransferase (GGT)**

A utilização de dosagens enzimáticas como método auxiliar nos problemas hepáticos é largamente utilizada na medicina veterinária.

Em condições fisiológicas, as enzimas utilizadas para a avaliação da função hepática de bovinos são encontradas em pequenas quantidades no plasma sanguíneo e em grandes quantidades no interior das células de certos tecidos. Portanto, a perda da integridade da membrana celular, em decorrência de hipóxia, leva ao extravasamento de enzimas intracelulares para o fluido extracelular no qual sua atividade é mensurada, possibilitando verificar o grau de lesão celular ou tecidual (KANEKO et al., 2008). Dessa forma, a pesquisa da atividade de certas enzimas no soro sanguíneo dos animais domésticos colabora na elucidação do diagnóstico e prognóstico de enfermidades localizadas em diferentes tecidos, inclusive das lesões hepáticas, visto que a atividade enzimática sérica específica aumenta com a enfermidade.

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima citoplasmática e mitocondrial presente em vários tecidos, como fígado, músculo cardíaco e esquelético, hemácias e intestino. Nas hepatopatias, a AST pode estar aumentada no soro, sempre que ocorrer um aumento da permeabilidade da membrana do hepatócito (MEYER et al., 1992). Nos bovinos, tem sido notada atividade enzimática crescente em casos de necrose hepática, doença do músculo branco e inanição

(COLES, 1984). É importante ressaltar que o aumento da AST em ruminantes pode derivar não apenas de lesão de hepatócitos, mas também de lesão muscular. Para minimizar essa situação, deve-se associar a dosagem de creatinocinase (CK) que é músculo-específica; assim, a elevação simultânea de CK e AST indica lesão muscular, enquanto atividades elevadas de AST na presença de CK normal indicam provável distúrbio hepatocelular (THRALL, 2007).

NICOLETTI et al. (1981) demonstraram a influência dos fatores raciais, ao verificarem que os teores séricos do aspartato aminotransferase (AST) eram maiores nos bovinos da raça Girolanda, quando comparados com os obtidos para os bovinos das raças Holandesa e Gir.

OTTO et al. (1992), trabalhando com bovinos zebuínos da raça Nelore, criadas no Paraguai sob diferentes normas de manejo, encontraram o valor de AST igual a  $55,7 \pm 13,4$  U/L. KANEKO et al. (2008) indicou, para bovinos, valores de referência de 78 a 132 U/L.

A creatinocinase (CK) é uma enzima encontrada em músculo esquelético, músculo cardíaco, músculo liso, cérebro e nervos, porém sua maior especificidade está relacionada com lesões musculares. No entanto, a sua meia-vida curta faz com que os altos valores séricos voltem rapidamente ao normal (KANEKO et al., 2008).

A CK nas lesões musculares aparece elevada antes da AST e também desaparece primeiro. Assim, o padrão enzimático dessas enzimas pode indicar o estágio do problema. A CK aumentada com a AST diminuída indicam lesão muscular muito aguda; teores persistentemente altos das duas indicam lesão ativa, enquanto níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação (GONZÁLEZ & SILVA, 2007). A meia-vida de CK no sangue de bovinos é inferior a 2 horas (THRALL, 2007).

Em bovinos, KANEKO et al. (2008) estabeleceu valores de referência da ordem de 66-120 U/L.

WEAVER (2004) relatou que o dano muscular provocado pelo decúbito prolongado de bovinos pode ser avaliado, com segurança, por meio da determinação sérica de CK e, juntamente com a enzima aspartato aminotransferase (AST), pode também identificar miopatia cardíaca em bovinos.

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima presente no intestino, nos rins, no fígado e nos ossos, mas possui maior importância nos tecidos ósseos e hepatobiliar. Com exceção dos animais jovens em crescimento ou animais com enfermidade óssea, o aumento da atividade dessa enzima geralmente indica disfunção hepatobiliar decorrente, principalmente de colestase e necrose por obstrução biliar intra-hepática (MEYER et al., 1995).

A enzima gamaglutamiltransferase (GGT) está presente em todas as células com exceção do músculo. Apresenta grande atividade nos rins e no fígado, mas somente a de origem hepática é normalmente encontrada no plasma, pois a de origem renal é excretada pela urina. O aumento da atividade dessa enzima ocorre em todas as espécies examinadas, após colestase (CENTER et al., 1997). A avaliação da GGT tem grande vantagem para o diagnóstico de colestase em ruminantes, por ser uma enzima originária do tecido biliar hepático, e seu aumento da atividade associa-se somente com colestase intra e extra-hepática e dano de ductos biliares (MEYER et al., 1992; LAVEZZO et al., 1996).

Os valores de referências da GGT, apresentados na literatura por MEYER et al. (1992), variam de 11 a 24 U/L, sendo semelhantes aos encontrados por DIRKSEN et al. (1993) e KANEKO et al. (2008), para bovinos adultos, que foi aproximadamente 20 U/L.

No Estado de São Paulo, BARROS FILHO et al. (1994) encontraram os valores médios de  $28,53 \pm 7,54$  U/L e  $11,53 \pm 3,70$  U/L para os teores séricos de AST e GGT, respectivamente, trabalhando com 32 fêmeas da raça Canchim. No ano seguinte, BARROS FILHO (1995) estudou os níveis séricos de AST e GGT, em fêmeas bovinas da raça Nelore, com idade entre 24 e 36 meses. Os valores médios obtidos foram, respectivamente:  $30,99 \pm 5,10$  U/L e  $10,39 \pm 3,36$  U/L.

FAGLIARI et al. (1998), estudando alguns constituintes séricos, indicaram os seguintes valores para as raças Nelore e Holandesa, respectivamente:  $43,62 \pm 11,12$  U/L e  $37,28 \pm 11,08$  U/L de AST;  $60,73 \pm 5,28$  U/L e  $68,53 \pm 4,62$  U/L de ALP;  $17,40 \pm 5,00$  U/L e  $16,01 \pm 3,86$  U/L de GGT.

Ao avaliar a influência de fatores raciais sobre as atividades enzimáticas do aspartato aminotransferase (AST) e da gamaglutamiltransferase (GGT) em bovinos,

SOUZA et al. (2004) concluíram que houve influência da raça nos resultados da AST, sendo os valores dos bovinos Jersey ( $49,27 \pm 17,87$  U/L) maiores do que os da raça Holandesa ( $34,76 \pm 10,61$  U/L), enquanto para a GGT não foram notadas diferenças significativas entre os resultados de animais das raças Jersey ( $19,46 \pm 33,11$  U/L) e Holandesa ( $19,08 \pm 33,26$  U/L). Já GREGORY et al. (1999), em pesquisa com vacas Jersey, concluíram que a infecção pelo vírus da Leucose Bovina não influenciou sobre a atividade enzimática sérica da AST e GGT.

### **2.3.5 Concentrações séricas de cálcio total e ionizado, fósforo, magnésio, sódio e potássio**

Os eletrólitos estão dispostos de forma dinâmica, mas ordenada funcionalmente nos compartimentos celulares. A principal função dos eletrólitos no organismo animal é a manutenção das forças osmóticas, o que possibilita o equilíbrio de líquidos entre os compartimentos intra e extracelulares, mecanismo essencial para sustentar normais os eventos fisiológicos e bioquímicos. Na célula, os eletrólitos atuam na condução nervosa e despolarização de fibras musculares, tornando possível a contração muscular. Participam, ainda, da ativação de enzimas do metabolismo intermediário e manutenção do pH desses fluidos. Desequilíbrios eletrolíticos podem estar associados a quadros de diarreia, nefropatias, desnutrição, doenças metabólicas e endócrinas, dentre outras, tornando-se fundamental o conhecimento do perfil bioquímico de cada espécie para subsidiar a identificação dos distúrbios fisiopatológicos que ocorrem em diversas enfermidades (KANEKO et al., 2008).

O cálcio é importante para vários processos biológicos, como contração muscular, excitabilidade nervosa, liberação de hormônios e permeabilidade da membrana plasmática, além de sua importante função no sistema esquelético. Diante de sua importância, os teores de cálcio são controlados por um sistema endócrino que envolve a vitamina D3, o paratormônio (PTH) e calcitonina. Apesar disso, o teor sanguíneo de Ca pode variar de acordo com fatores, como espécie,

idade e dieta (MEYER et al., 1995). KANEKO et al. (2008) estabeleceram valores normais em bovinos entre 9,70 e 12,40 mg/dL.

Cerca de 50% do cálcio total do sangue estão ligados às proteínas plasmáticas (principalmente albumina), menos de 10% estão nos complexos minerais ligados aos fosfatos inorgânicos e o restante permanece em sua forma ionizada. Vários fatores podem influenciar a proporção da fração do cálcio ionizado, sendo os mais importantes a concentração de proteínas séricas e albumina, o pH do sangue e a temperatura corporal (THRALL, 2007).

O íon sódio é o principal cátion do líquido extracelular e um importante componente do esqueleto. Cerca de 50% do depósito corporal de sódio é encontrado no líquido extracelular, 45% nos ossos e o restante no interior das células. As principais funções do íon sódio são: regulação da pressão osmótica de cristalóides, equilíbrio ácido-base, manutenção dos potenciais de membrana, transmissão de impulsos nervosos e processos de absorção de monossacarídeos, aminoácidos, pirimidinas e sais biliares. A manutenção do equilíbrio de sódio deve-se principalmente, aos efeitos do mecanismo renina-angiotensina-aldosterona no transporte de sódio pelas superfícies epiteliais dos rins, no sistema gastrointestinal e nas glândulas sudoríparas (THRALL, 2007).

O potássio é o principal cátion do líquido intracelular e do organismo. O potássio é muito importante para a manutenção do ritmo e da frequência cardíaca normais, o controle renal de sódio, o metabolismo ácidobásico e vários processos do metabolismo intermediário (BAKER et al., 2007).

O magnésio exerce amplo papel no organismo animal, por ser ativador de muitas enzimas envolvidas em processos ligados ao metabolismo energético, ao metabolismo dos ácidos nucleicos e biossíntese de proteínas, tendo importância também na contração muscular e na neurotransmissão (GUYTON & HALL, 2002).

O controle de magnésio pelo corpo é muito semelhante ao de potássio. Assim é possível que distúrbios que causem hipo ou hipercalemia provoquem hipo ou hipermagnesemia (BAKER et al., 2007). A magnesemia normal para bovinos varia de 1,80 a 2,30 mg/dL (KANEKO et al., 2008).

Concentrações anormais de eletrólitos no plasma, como cálcio, potássio e sódio podem desencadear distúrbios eletrolíticos associados com quadros de diarreia, doença renal, baixo desempenho atlético e sudorese (ROSE & HODGSON, 1994).

O sódio e o potássio são os principais solutos extra e intracelulares, respectivamente (JOHNSON, 1995). O sódio, potássio e cloretos são extremamente importantes por causa de suas altas concentrações e, por estarem completamente dissociados em soluções aquosas, as determinações de suas concentrações relativas são os principais determinantes para o equilíbrio ácido-base (STÄMPFLI & CARLSON, 2001).

BIRGEL et al. (1991), em amostras de soro sanguíneo de 121 fêmeas da raça Jersey, criadas em São Paulo, obtiveram valores que variavam entre 9,12 e 11,12 mg/dL para os teores de cálcio e variação entre 6,41 e 9,41 mg/dL para os teores de fósforo. No mesmo trabalho, os autores constataram para os teores séricos de sódio e potássio, valores que variavam entre 135 e 141 mMol/L e 4,80 e 5,80 mMol/L, respectivamente.

AGNES et al. (1993) determinaram os teores de cálcio sérico em gado da raça Holandesa, em animais adultos e bezerros, verificando apenas diferenças significativas em relação aos bezerros recém-nascidos, até dois dias de vida.

### **2.3.6 Proteinograma sérico**

Proteínas são compostos de alto peso molecular, consistindo primariamente de cadeias de aminoácidos unidos por ligações peptídicas. Sua função específica é determinada pela sequência de aminoácidos e por sua conformação estrutural. Alterações na concentração plasmática ou sérica de proteínas são as principais anormalidades laboratoriais em algumas doenças; geralmente observa-se alteração no teor de proteínas em várias enfermidades. As variações observadas nas diversas frações podem refletir doenças específicas e trazer valiosos subsídios para o seu diagnóstico (TRALL, 2007).

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. Elas estão envolvidas em múltiplas funções, tais como a manutenção da pressão osmótica e viscosidade do sangue, o transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, a regulação do pH sanguíneo e a participação na coagulação sanguínea. As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, estando a taxa de síntese diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática (KANEKO et al., 2008).

As proteínas podem estar diminuídas na síndrome da má absorção, na cirrose hepática, na síndrome nefrótica, nas enteropatias, em animais jovens e nas hemorragias. Enquanto nas infecções, na desidratação, na perda de fluidos corporais e nos animais mais velhos podem estar aumentadas (GONZÁLEZ & SCHEFFER, 2002).

Segundo KANEKO et al. (2008), as proteínas de cada espécie são sintetizadas sob o controle genético, o que explica a grande variação entre as espécies e indivíduos da mesma espécie.

A albumina é a fração mais homogênea, solúvel, estável e abundante no plasma, perfazendo cerca de 35 a 40% do total de proteínas séricas. Tem um peso molecular aproximado de 66 kDa. É sintetizada no fígado e contribui com 80% na osmolaridade do plasma sanguíneo, além de atuar como transportadora de várias substâncias endógenas e exógenas, tais como: bilirrubina, ácidos graxos, hormônios, cálcio, corantes e fármacos (KANEKO et al., 2008).

OTTO et al. (1992) estudaram as variações dos níveis séricos de proteína total e albumina em um plantel de bovinos da raça Nelore, cujos teores médios foram de  $7,90 \pm 0,43$  g/dL e de  $3,12 \pm 0,36$  g/dL, respectivamente.

Em 1997, no Estado de São Paulo, CANAVESSI (1997) estudou o perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça Nelore de várias faixas etárias, mantidos em regime de criação extensiva, e observou diferenças significativas entre os animais jovens e adultos. Os valores da proteína total e da albumina das fêmeas com idade entre 18 e 24 meses foram, respectivamente:  $7,08 \pm 0,56$  g/dL e  $3,03 \pm 0,26$  g/dL, com valores semelhantes ao descritos por SOUZA

(1997), também no Estado de São Paulo, trabalhando com bovinos da raça Gir, Girolanda e Holandesa. Foi observado um aumento gradativo e significativo dos teores de proteína total e de albumina com a idade, os quais variaram entre 6,18 a 8,03 g/dL e 3,06 a 3,78 g/dL, respectivamente.

Estudando os perfis dos constituintes séricos em fêmeas e machos bovinos e bubalinos, lactentes, desmamados e adultos, FAGLIARI et al. (1998) observaram que os teores de proteínas totais e albumina foram maiores em bubalinos que em bovinos. Verificaram também que, não houve diferença significativa entre as fêmeas adultas das raças Nelore e Holandesa.

BIRGEL Jr. et al. (2001), ao avaliarem o proteinograma de bovinos da raça Holandesa, infectados pelo vírus da leucose dos bovinos, criados em São Paulo, demonstraram que não houve influência do vírus da leucose dos bovinos sobre os teores de proteína totais e albumina.

PINTO (2003) constatou que as concentrações séricas de proteína total e albumina de búfalas da raça Murrah, positivas e negativas à sorologia para brucelose, não diferiram significativamente. Os valores obtidos dos animais soropositivos e daqueles soronegativos foram, respectivamente,  $7,87 \pm 0,61$  e  $7,74 \pm 0,58$  g de proteína/dL;  $3,49 \pm 0,39$  e  $3,57 \pm 0,26$  g de albumina/dL.

Em bovinos, segundo KANEKO et al. (2008), os valores séricos de albumina variam de 2,8 a 3,8 g/dL.

A determinação das concentrações de proteínas séricas e suas variações, por meio do fracionamento eletroforético, representam uma arma valiosa no entendimento dos processos fisiopatológicos, tendo sido utilizada para o monitoramento de enfermidades em várias espécies (FAGLIARI et al., 1998; FAGLIARI & SILVA, 2002).

As pesquisas realizadas em bioquímica clínica veterinária têm levado à identificação de várias proteínas denominadas proteínas de fase aguda (PFA). A síntese dessas proteínas representa uma reação inespecífica a infecções, inflamações, injúrias teciduais, neoplasias e distúrbios imunológicos, a fim de restaurar a homeostasia e prevenir o crescimento de microrganismos (GRUYS et al., 1994).

Segundo KANEKO et al. (2008), o fracionamento eletroforético representa uma das mais confiáveis técnicas de identificação de proteínas sanguíneas, que podem ser classificadas em albumina, alfa globulina, beta globulina e gama globulina. Um aumento das PFAs também pode ser observado pela eletroforese das proteínas séricas e registro de elevação nas frações  $\alpha$  e/ou  $\beta$  (THOMAS, 2000).

O uso da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida que contém dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é relativamente simples e de baixo custo, e possibilita a detecção de concentrações proteicas extremamente baixas e a identificação de 20 a 30 proteínas, utilizando-se microquantidades de amostra. Outras técnicas, como as realizadas em filmes de agarose ou fitas de celulose, apresentam limitações, porque permitem o fracionamento de apenas cinco a sete grupos de proteínas (FAGLIARI & SILVA, 2002)

A síntese e a liberação das proteínas de fase aguda (PFA) do fígado são reguladas pelos mediadores do processo inflamatório. Esses mediadores são enquadrados em quatro categorias: citocinas interleucinas tipo 1 (IL-1), citocinas interleucinas tipo 6 (IL-6), glicocorticóides e os fatores de crescimento. As citocinas estimulam a expressão gênica para a síntese de proteínas de fase aguda (PFA), enquanto os glicocorticoides e os fatores de crescimento funcionam mais como moduladores da ação das citocinas (BAUMANN & GAULDIE, 1994). A citocina interleucina 6 (IL-6) tem sido reconhecida como principal reguladora dos genes APP (proteínas de fase aguda positivas). Os genes reguladores de IL-1 são diferentes dos da IL-6. As proteínas de fase aguda podem ser classificadas como positivas ou negativas (KANEKO et al., 2008). No primeiro grupo, enquadram-se, dentre outras, o fibrinogênio, a  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida e a haptoglobina (TAKIGUCHI et al., 1990; TRUMEL et al., 1996), as quais se elevam imediatamente após a instalação do processo inflamatório ou endotoxêmico (GODSON et al., 1996), decrescendo rapidamente com a regressão da lesão (KENT, 1992). No segundo grupo, destacam-se a albumina e a transferrina, cujos teores séricos tendem a decrescer na presença de condições inflamatórias (KANEKO et al., 2008).

Durante o processo inflamatório, o fígado, preferencialmente, produz PFA em detrimento de outras proteínas, como albumina e transferrina. Em consequência, ocorre uma redução da relação albumina:globulina (COLE et al., 1997). Desordens inflamatórias subclínicas também podem induzir aumento nas concentrações de PFA (GRÖNLUND et al., 2005).

A albumina é a fração mais abundante e homogênea, possui a função de manter a pressão coloidosmótica plasmática, além de ser responsável pelo transporte de várias substâncias endógenas e exógenas. A fração  $\alpha$ -globulina possui a função de carrear lipídios, hormônios, vitaminas e minerais e nela estão contidas a antitripsina, transtiroxina, transcortina, protrombina, glicoproteína ácida, lipoproteína, trombina, haptoglobina, ceruloplasmina, macroglobina, HS-glicoproteína, várias enzimas e fatores de coagulação. A fração  $\beta$ -globulina tem grande importância no transporte do colesterol, estrógenos e progesterona. Nela estão contidas a transferrina, hemopexina, lipoproteínas, frações do complemento (C3, C4, C5), além de várias enzimas e fatores de coagulação. A fração  $\gamma$ -globulina é composta por substâncias imunologicamente ativas, e a formação de anticorpos depende exclusivamente da porcentagem dessa fração proteica no soro. A fração  $\gamma$ -globulina é constituída por imunoglobulinas A, M, E, G e algumas enzimas. Em geral, a IgG representa 85,0% dessa fração, sendo responsável pelas modificações da curva de eletroforese (KANEKO et al., 2008).

Em ruminantes, concentrações aumentadas de PFA, como o fibrinogênio plasmático e a haptoglobina, podem ser indicadores mais sensíveis de um processo inflamatório agudo que mudanças na contagem leucocitária (TAYLOR, 2000). Essas proteínas foram consideradas indicadores potenciais de doença e bem-estar em animais, individualmente, bem como de saúde do rebanho (PETERSEN et al., 2004).

A haptoglobina (HPT) é uma alfa globulina, com vida média de dois a quatro dias, sendo importante na manutenção da homeostase do ferro, bem como em doenças influenciadas pelo metabolismo férrico (MURATA et al., 2004). EATON et al. (1982) atribui a essa PFA a função bacteriostática por sua capacidade de ligar-se à hemoglobina livre, indisponibilizando-a como fonte de ferro para o microrganismo agressor.

Segundo CONNER et al. (1988), a haptoglobina é a PFA mais estudada em bovinos. Nessa espécie, a mensuração de PFA, especialmente HPT e ASA (amiloide sérica A), pode diferenciar melhor as inflamações agudas das crônicas, quando comparadas aos testes hematológicos (HORADAGODA et al., 1999). Elevações consistentes da HPT têm sido observadas em associação a abscessos, pneumonia e afecções do trato respiratório, endocardite, peritonite, reticulite e pericardite traumáticas, mastite, metrite e enterite (GANHEIM et al., 2007; COSTA et al., 2007).

Um aumento da concentração das proteínas de fase aguda haptoglobina,  $\alpha$ -1 ácido-globulina e proteína amiloide-A foi descrito por WALKER et al. (1994), quando esses autores estudaram o proteinograma de bovino com infecção bacteriana experimental. No soro bovino, a haptoglobina forma um polímero associado à albumina, e vários autores ressaltam a sua importância para indicar a ocorrência de processo inflamatório nessa espécie (FAGLIARI et al., 2003).

A ceruloplasmina (Cp) tem como principal função transportar cobre no sangue, e é reconhecida como uma proteína de fase aguda positiva, ou seja, aumenta após um estímulo inflamatório (OKUMURA et al., 1991). A aplicação da Cp como biomarcador diagnóstico permanece menos comum que a de outras proteínas de fase aguda, no entanto, tem sido demonstrado ser um bom indicador de infecção em bovinos (SEGELMARK et al., 1997).

FAGLIARI et al. (2003) constataram que os teores de ceruloplasmina,  $\alpha$ -1-antitripsina, haptoglobina e  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida foram significativamente maiores em bezerros infectados, em comparação com aqueles bezerros saudáveis; concluíram que a mensuração destas proteínas é útil na monitoração da progressão da pneumonia de bezerros causada por *M. haemolytica*. FAGLIARI et al. (2007) analisaram o soro sanguíneo de 50 bovinos com fotossensibilização adquirida durante pastejo em *Brachiaria decumbens* e verificaram aumentos nas concentrações de proteínas de fase aguda com cifras de 377,3% para haptoglobina, 309,1% para ceruloplasmina, 251,7% para  $\alpha$ -1-antitripsina e 146,2% para  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida, em comparação com bovinos sadios.

A glicoproteína ácida é um componente da  $\alpha_1$ -globulina, que também é uma proteína de fase aguda positiva, sendo identificada após infecções, inflamações e tumores malignos (TAIRA et al., 1992). A  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida tem sido associada a propriedades anti-inflamatórias, como tendo um papel regulador das atividades pró-inflamatórias de neutrófilos (RINALDI et al., 2008) e também inibidor da migração de monócitos bovinos em resposta a agentes quimiotáxicos (LECCHI et al., 2008).

Além do importante papel das proteínas de fase aguda no processo de defesa imunológico, suas taxas séricas podem servir como indicadores da atividade de leucócitos, como macrófagos, monócitos e linfócitos, frente às infecções por *Brucella* sp, uma vez que é no interior de leucócitos mononucleares que se localizam essas bactérias nos animais cronicamente infectados (HORT et al., 2003).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

◆ Determinar os perfis bioquímicos séricos de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda sororreagentes ou não à brucelose e leptospirose, criadas no Estado do Maranhão.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

##### **3.2.1 Experimento 1**

◆ Determinar as atividades das enzimas aspartato aminotransferase, gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e creatinocinase em vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, clinicamente sadias.

◆ Determinar os valores de referência das concentrações séricas de cálcio total, cálcio ionizado, fósforo, magnésio, sódio, potássio, bilirrubinas, ureia, creatinina, colesterol e triglicérides em vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, clinicamente sadias.

◆ Determinar o proteinograma de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, clinicamente sadias, em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE).

### 3.2.2 Experimento 2

- ◆ Comparar as atividades das enzimas aspartato aminotransferase, gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e creatinocinase de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, clinicamente sadias, com as de vacas sororreagentes para brucelose e leptospirose.
  
- ◆ Comparar as concentrações séricas de cálcio total, cálcio ionizado, fósforo, magnésio, sódio, potássio, bilirrubinas, ureia, creatinina, colesterol e triglicérides e o proteinograma sérico de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, clinicamente sadias, com as de vacas sororreagentes para brucelose e leptospirose.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, em conformidade com as normas internacionais para uso de animais de experimentação, sob protocolo nº 007780/09.

### 4.1 Área de estudo

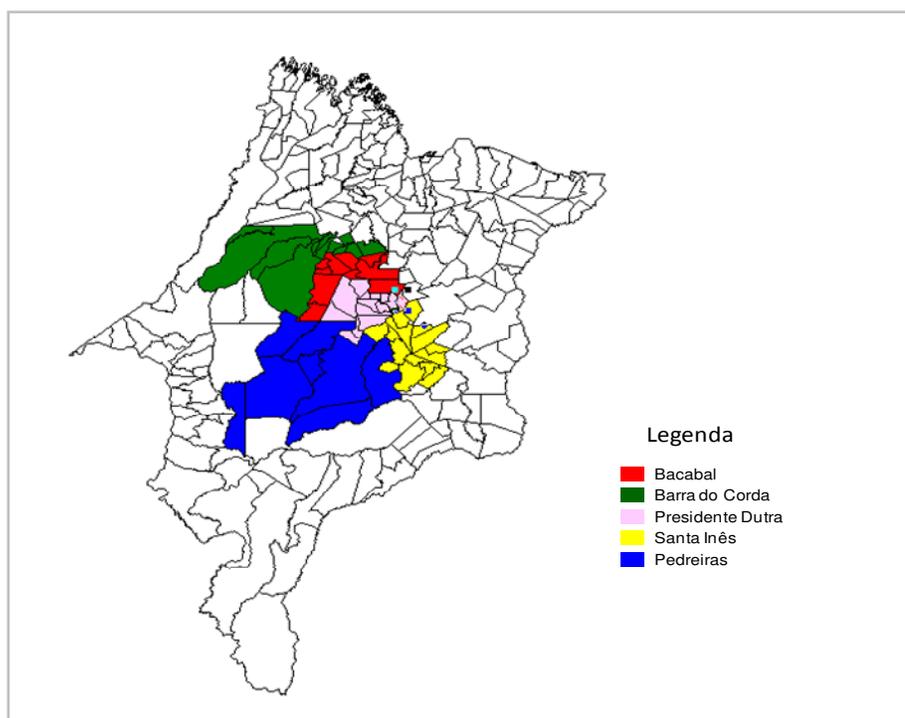
O Estado do Maranhão situa-se na região Nordeste do Brasil, entre as coordenadas de 01°01' a 10°21' lat. S e 41°48' a 48°40' long. W. Abrange 333.365,6km<sup>2</sup>, limitando-se ao Norte com o Oceano Atlântico, ao Leste com o Piauí, ao Sul e Sudoeste com o Tocantins e ao Noroeste com o Pará. O clima predominante no Estado é tropical e com índice pluviométrico anual que varia de 800 a 2.800 mm<sup>3</sup> (IBGE, 2008).

O estudo foi realizado no circuito II do Estado Maranhão, nas regionais de Pedreiras, Bacabal, Santa Inês, Presidente Dutra e Barra do Corda. Esse circuito faz parte da estratificação realizada pela coordenação estadual do PNCEBT, em quatro circuitos pecuários (Figura 1), baseado em parâmetros epidemiológicos distintos que variam conforme os diferentes sistemas de produção, práticas de manejo, finalidade de exploração, tamanho médio dos rebanhos e sistemas de comercialização (MAPA, 2005).

As regionais consideradas abrangem municípios pertencentes à mesorregião Centro-Oeste maranhense (Figura 2), os quais possuem propriedades de extensão variada, dedicadas à exploração pecuária de corte e/ou leite, e algumas desenvolvem atividades agrícolas. Constituem uma área de 90.114.222 km<sup>2</sup>, que representa 27% do território maranhense, com um rebanho bovino estimado em 1,9 milhões de animais, correspondentes a 27% do rebanho total do Estado, que é de aproximadamente 6,9 milhões de cabeças (AGED/MA, 2008).



**Figura 1.** Mapa do Maranhão com os quatro circuitos pecuários.



**Figura 2.** Mapa do Maranhão com as regionais do circuito II.

## 4.2 Animais

Foram utilizadas fêmeas bovinas das raças Nelore e mestiças Girolanda, clinicamente sadias, com idade entre 24 e 36 meses, não prenhes e não lactantes, provenientes de 180 propriedades dos 60 municípios que compõem as cinco regionais estudadas. O sistema de criação predominante era extensivo, em pastagens constituídas por braquiária (*Brachiaria brizantha*) e com suplementação de sal mineral preferencialmente durante o verão. Em sua maioria, os animais foram submetidos a práticas de manejos semelhantes, com limitados recursos técnicos e intensa rotatividade de animais.

## 4.3 Grupos experimentais

Inicialmente, todas as fêmeas foram submetidas a testes sorológicos para diagnóstico de brucelose e leptospirose. Em seguida, foram constituídos os grupos experimentais.

### 4.3.1 Experimento 1

Foram selecionadas aleatoriamente 120 vacas da raça Nelore, não reagentes aos testes de brucelose e leptospirose (**Grupo 1**), e o mesmo número de animais mestiços Girolando (**Grupo 2**), para obtenção dos valores de referência de parâmetros bioquímicos do soro sanguíneo. Para determinação das concentrações séricas das frações protéicas utilizaram-se 30 animais, sendo 15 fêmeas da raça Nelore (**Grupo 1**) e 15 fêmeas da raça mestiça Girolanda (**Grupo 2**).

### 4.3.2 Experimento 2

Adicionalmente, foram escolhidas aleatoriamente vacas positivas e negativas aos testes mencionados e, em seguida, foram reunidas em três grupos experimentais, constituídos cada um por 50 animais, sendo 25 vacas da raça Nelore e 25 da raça mestiças Girolanda, permitindo estudar a influência da raça sobre os parâmetros avaliados.

**Grupo Controle:** 50 vacas negativas aos testes de brucelose e leptospirose.

**Grupo Brucelose:** 50 vacas sororreagentes ao teste de brucelose.

**Grupo Leptospirose:** 50 vacas sororreagentes ao teste de leptospirose.

Para avaliação das concentrações séricas das frações protéicas utilizaram-se para cada grupo experimental 30 animais, de maneira que houvesse 15 fêmeas da raça Nelore e 15 fêmeas da raça mestiça Girolanda em cada grupo avaliado.

### 4.4 Colheita e preparação das amostras de sangue

As amostras utilizadas foram obtidas durante a realização do inquérito epidemiológico de brucelose bovina pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por intermédio da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão (AGED). As colheitas foram realizadas no período de novembro de 2008 a janeiro de 2009. Foram colhidas amostras de 20 mL de sangue por meio de venopunção jugular, em frascos tipo *vacutainer*, sem anticoagulante. Após retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 900 x G, durante 5 minutos, para obtenção das amostras de soro, as quais foram acondicionadas em frascos de polipropileno (*ependorf*) e congeladas à temperatura de -20°C até o momento da realização das análises.

## **4.5 Análises laboratoriais**

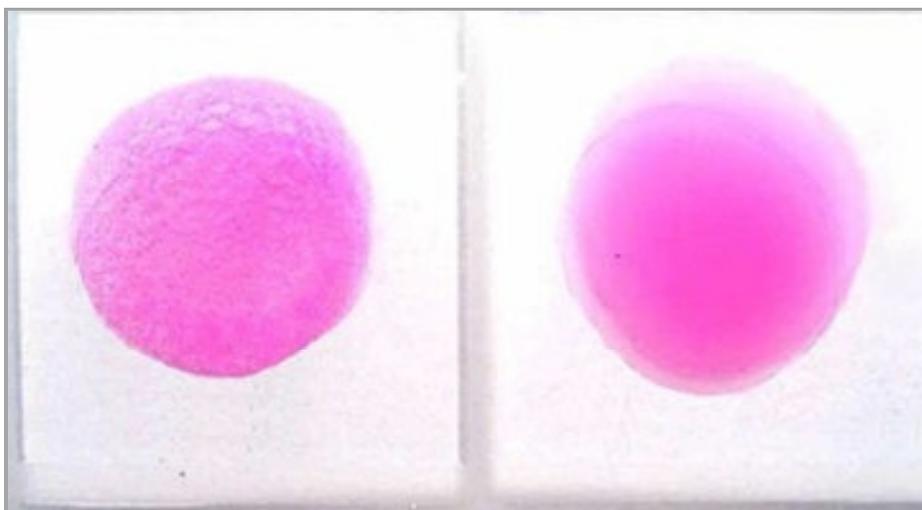
Para o diagnóstico sorológico de brucelose, as amostras de soro sanguíneo foram analisadas no Laboratório de Bacteriologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA e para o de diagnóstico de Leptospirose as análises foram realizadas no Laboratório de Diagnóstico de Leptospirose e Brucelose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal. Já as dosagens bioquímicas dessas amostras foram realizadas no Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal.

### **4.5.1 Diagnósticos sorológicos**

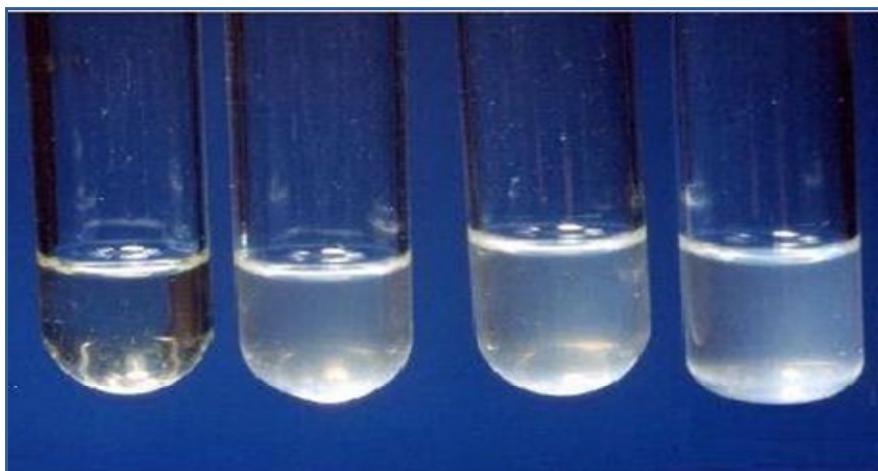
#### **4.5.1.1 Sorodiagnóstico para brucelose**

As amostras foram submetidas a duas provas sorológicas, de acordo com o recomendado pelo MAPA, na Instrução Normativa nº 06, de 08 de janeiro de 2004 (BRASIL, 2004).

Como teste de triagem das amostras, realizou-se a prova do antígeno acidificado tamponado (AAT) (TECPAR); somente as amostras reagentes nesse teste foram submetidas às provas de SAL (TECPAR) e 2-ME (MERK). O protocolo dos testes e interpretação dos resultados foram feitos de acordo a Instrução Normativa nº 41, de 24 de novembro de 2006 (BRASIL, 2006), classificando-se como animal soropositivo aqueles que apresentaram reação ao 2-ME e, como foco da enfermidade, aquela propriedade em que o rebanho apresentasse pelo menos um animal soropositivo (Figuras 3 e 4).



**Figura 3.** Teste antígeno acidificado tamponado (AAT). Esquerda: reação positiva.  
Direita: reação negativa.



**Figura 4.** Teste 2-Mercaptoetanol (2ME). No 1º tubo da esquerda a coluna de líquido se encontra límpida com presença de flocos de aglutinação no fundo do tubo (positivo). Nas demais diluições o antígeno permanece em suspensão e não há aglutinação (negativo).

#### 4.5.1.2 Sorodiagnóstico para leptospirose

A técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos (FAINE et al., 1999), prova de referência pela Organização Mundial da Saúde-OMS para o diagnóstico da leptospirose, foi empregada para mensuração dos níveis de aglutininas para todas as amostras de soros.

#### 4.5.2 Análises bioquímicas

Foram avaliadas as concentrações séricas de cálcio total (método colorimétrico-CPC), fósforo (método de Daly e Ertingshausen modificado), magnésio (método Labtest), triglicérides (método enzimático de Trinder), colesterol (método enzimático de Trinder), cálcio ionizado, sódio, cloreto e potássio (método de íons seletivos), proteína total (método do biureto), albumina (método do verde de bromocresol), bilirrubinas total e direta (método de Sims-Horn), ureia (método enzimático UV) e creatinina (método Labtest), bem como as atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase (método cinético UV-IFCC), creatinocinase (método cinético UV-IFCC), gamaglutamiltransferase (método de Szasz modificado) e fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado). Para a realização dos testes foram utilizados reagentes comerciais<sup>1</sup>; as leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas em espectrofotômetro semiautomático<sup>2</sup>, em comprimentos de onda específicos para cada constituinte, e em dosador de íons seletivos<sup>3</sup>

O proteinograma sérico foi obtido pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por LAEMMLI (1970). Após o fracionamento, o gel foi corado durante 10 minutos em solução de azul de coomassie, constituída de metanol (50%), água

---

<sup>1</sup> Labtest, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG

<sup>2</sup> Labquest, mod. E-225-D, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG

<sup>3</sup> 9180, Electrolyte Analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany

(40%), ácido acético glacial (9,75%) e azul de coomassie (0,25%). Em seguida o gel foi colocado em solução de ácido acético 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações proteicas se apresentassem nítidas. As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado<sup>4</sup>.

Como referência, foi utilizada uma solução marcadora<sup>5</sup> com pesos moleculares 20.000, 24.000, 29.000, 36.000, 45.000, 55.000, 66.000, 97.000, 116.000 e 205.000 dáltons, bem como as proteínas purificadas albumina (mg/dL), IgG, haptoglobina,  $\alpha_1$ -antitripsina, ceruloplasmina, transferrina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida<sup>5</sup>.

#### 4.6 Análise estatística

Usou-se a análise de variância (ANOVA) para delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x2 (grupos experimentais e raças). As comparações das médias foram feitas pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância ( $P \leq 0,05$ ). A ANOVA e o teste de Tukey foram realizados mediante o uso do programa estatístico computadorizado *Statistical Analysis System* (SAS – Versão 9.1). Os resultados foram apresentados como valores médios  $\pm$  desvio-padrão (DP), na forma de tabelas e figuras.

---

<sup>4</sup> Densitometer CS9301-Shimadzu, Tokyo, Japan.

<sup>5</sup> Sigma, Saint Louis, USA.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em decorrência do grande número de dados e visando facilitar a visualização e compreensão dos objetivos propostos, os resultados dos parâmetros bioquímicos séricos foram agrupados por experimentos. O experimento 1 foi destinado à determinação dos valores de referência dos grupos 1 e 2, com 120 animais cada grupo, enquanto o experimento 2 teve a finalidade de apresentar as interrelações entre os grupos controle e sororreagentes para brucelose e leptospirose, conforme as variáveis estudadas.

### **5.1 Perfil bioquímico sérico**

#### **5.1.1 Experimento 1**

##### **5.1.1.1 Enzimas, metabólitos e minerais**

Os valores médios e os respectivos desvios padrão das atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), gamaglutamittransferase (GGT) e creatinocinase (CK) e os teores uréia, creatinina, bilirrubina total, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, triglicérides, colesterol, cálcio total, fósforo, magnésio, sódio, potássio e cálcio ionizado de vacas do grupo controle das raças Nelore e mestiças Girolanda, encontram-se na Tabela 1.

Constatou-se que as atividades séricas de creatinocinase, creatinina, bilirrubina total, bilirrubina indireta e de cálcio ionizado apresentaram diferenças significativas entre as raças Nelore e mestiças Girolanda. De maneira geral, os valores médios das outras variáveis não diferiram significativamente entre as raças e encontraram-se dentro dos limites considerados normais propostos por KANEKO et al. (2008).

**Tabela 1.** Médias e desvios padrão das atividades séricas de aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, gamaglutamitransferase, creatinocinase e teores séricos de uréia, creatinina, bilirrubina total, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, triglicérides, colesterol, cálcio total, fósforo, magnésio, sódio, potássio e cálcio ionizado de vacas sadias das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.

Parâmetros	Raças	
	Nelore (n= 120)	Girolanda (n= 120)
Aspartato aminotransferase (U/L)	58,5±18,2A	59,7±17,5A
Fosfatase alcalina (U/L)	76,7±43,2A	73,7±40,9A
Gamaglutamiltransferase (U/L)	20,2±9,25A	22,1±7,54A
Creatinocinase (U/L)	87,5±56,3A	68,6±43,4B
Uréia (mg/dL)	21,5±12,0A	19,0±10,0A
Creatinina (mg/dL)	1,61±0,41A	1,47±0,32B
Bilirrubina total (mg/dL)	0,28±0,16A	0,23±0,08B
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,09±0,05A	0,09±0,04A
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,19±0,15A	0,14±0,09B
Triglicérides (mg/dL)	24,0±8,59A	25,7±7,06A
Colesterol (mg/dL)	126±41,0A	136±47,9A
Cálcio total (mg/dL)	8,63±1,45A	8,71±1,27A
Fósforo (mg/dL)	5,34±1,35A	5,18±1,49A
Magnésio (mg/dL)	2,49±0,51A	2,53±0,50A
Sódio (mMol/L)	136±8,93A	134±8,45A
Potássio (mMol/L)	5,91±1,47A	5,95±1,57A
Cálcio ionizado (mMol/L)	0,66±0,14A	0,73±0,18B

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

Verificou-se que a atividade sérica de creatinocinase de bovinos da raça Nelore foi estatisticamente superior àquela de bovinos mestiços Girolando, porém no intervalo considerado normal para a espécie. Segundo THRALL (2007) a creatinocinase (CK) é uma enzima de extravasamento e sua elevação no soro sanguíneo é considerada indicador de lesão muscular. Outros pesquisadores relatam

diversos fatores que induzem à elevação desta enzima no soro sanguíneo de animais, dentre os quais se destacam esforço físico, traumatismo durante o transporte, injeção intramuscular e decúbito prolongado (MORAIS et al., 2000; TADICH et al., 2000; BIRGEL JUNIOR et al., 2003; SOUZA et al., 2008). É provável que o aumento verificado nesse estudo se deva ao comportamento mais reativo dos bovinos de raças Nelore, exercendo maior esforço muscular no momento da coleta das amostras de sangue.

Quanto aos teores séricos de creatinina, os maiores valores foram registrados também nos animais da raça Nelore. Embora tenha sido observada diferenças estatísticas entre as raças, os valores médios se mantiveram nos limites normais estabelecidos por KANEKO et al. (2008). Os teores normais deste metabólito no soro dos bovinos indicam que o aumento constatado nos animais da raça Nelore pode estar associado, provavelmente, à maior massa muscular dos animais dessa raça, visto que a concentração sérica de creatinina de um indivíduo relaciona-se ao volume de massa muscular sendo, portanto, maior nos animais musculosos ou bem-condicionados (THRALL, 2007).

Notou-se a influência dos fatores raciais nos valores de bilirrubina total e bilirrubina indireta, sendo maiores em bovinos da raça Nelore do que naqueles mestiços Girolando. Os valores foram semelhantes aos descritos por MEYER et al. (1992) e KANEKO et al. (2008) em bovinos. Todavia, foram menores quando comparados com aqueles relatados por BARROS FILHOS (1995), em fêmeas bovinas da raça Nelore, e por SOUZA (1997), em bovinos da raça Girolanda. Pode-se afirmar que a variação observada no teor sérico de bilirrubina total foi em decorrência da maior concentração de bilirubina indireta dos animais da raças Nelore. Apesar da variação, os resultados situaram-se na faixa de variação normal para a espécie.

Constataram-se, ainda, variações na concentração sérica de cálcio ionizado em função da raça. Os animais da raça mestiça Girolanda apresentaram valores significativamente maiores do que os Nelore. Levando em consideração os inúmeros fatores causadores da variabilidade fisiológica dos valores bioquímicos do soro sanguíneo dos bovinos, pode-se inferir que a diferença nos teores de cálcio ionizado

entre as fêmeas bovinas está relacionada à influência de fatores ligados à raça ou grau de mestiçagem. Esta verificação é concordante com os resultados relatados por SOUZA (1997), que avaliaram o perfil bioquímico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda criados no Estado de São Paulo e constataram diferença da calcemia que poderia ser atribuída à influência de fatores raciais.

A influência dos fatores raciais nos parâmetros bioquímicos séricos de bovinos relatados por autores brasileiros (SOUZA, 1997; NICOLETTI et al., 1981) também foi observada nesta pesquisa, pois notaram-se diferenças nas atividades séricas de creatinocinase e nos teores séricos de creatinina, bilirrubina total, bilirrubina indireta e de cálcio ionizado entre as raças Nelore e mestiços Girolando.

#### **5.1.1.2 Proteinograma sérico**

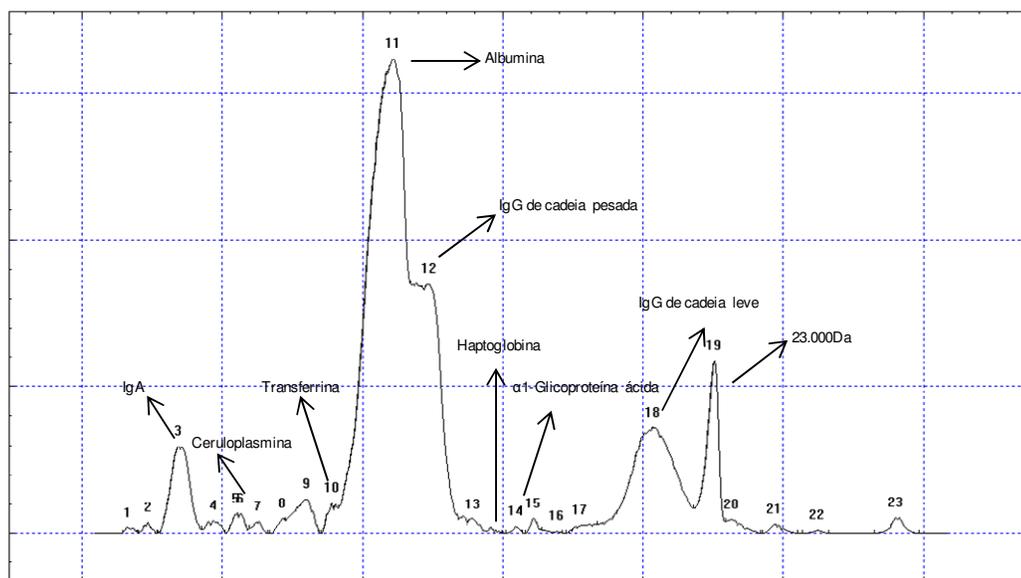
Os valores médios e desvios padrão da concentração sérica de proteína total (PT) e albumina, de vacas do grupo das raças Nelore e mestiças Girolanda, encontram-se na Tabela 2. Observou-se que os teores séricos de proteína total e albumina obtidos por meio de espectrofotometria, não foram significativamente diferentes entre as raças estudadas. Esses achados estão em concordância com os referidos por FAGLIARI et al. (1998), para vacas adultas e estão em discordância com os resultados apresentados por SOUZA (1997) por ter encontrado influência dos fatores raciais nos teores séricos de proteína total e albumina em vacas adultas. De maneira geral, os valores médios determinados se mantiveram dentro dos limites considerados normais para a espécie (KANEKO et al., 2008; GONZÁLEZ et al., 2000).

**Tabela 2.** Médias e desvio padrão das concentrações séricas de proteína total (g/dL) e albumina (g/dL) de vacas sadias das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.

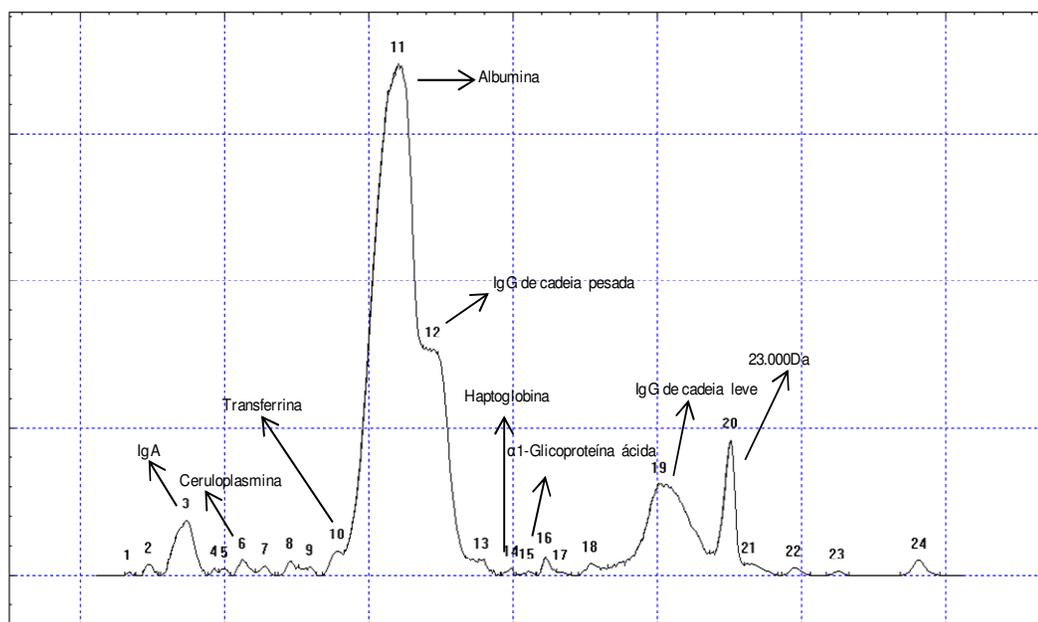
Parâmetros	Raças	
	Nelore (n= 120)	Girolanda (n= 120)
Proteína total	7,70±1,24A	7,79±1,00A
Albumina	2,52±0,51A	2,42±0,44A

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ ).

No traçado densitométrico obtido pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), foi possível detectar 23 e 24 frações protéicas para as raças Nelore e mestiças Girolanda, respectivamente (Figura 5 e 6), com pesos moleculares de 17 Kilodáltons (kDa) a 239 kDa.



**Figura 5.** Traçado densitométrico das frações protéicas do soro sanguíneo de vacas sadias da raça mestiça Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.



**Figura 6.** Traçado densitométrico das frações protéicas do soro sanguíneo de vacas sadias da raça Nelore, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.

O uso de SDS-PAGE neste trabalho foi considerado útil, tendo em vista que proteinogramas obtidos em gel de agarose e em fitas de acetato de celulose (FAGLIARI et al., 1998; BORGES et al., 2001), rotineiramente utilizados em medicina veterinária, permitem a detecção de apenas cinco a sete grupos de proteínas. Neste experimento, identificou-se grande número de proteínas específicas, principalmente proteínas de fase aguda como ceruloplasmina,  $\alpha_1$ -antitripsina, transferrina, haptoglobina e glicoproteína ácida (GRUYS et al., 1994; FAGLIARI et al., 2007), bem como IgG, que permite avaliar a resposta imune e auxilia no diagnóstico de diversos quadros clinicopatológicos (FAGLIARI & SILVA, 2002; FAGLIARI et al., 2003; FAGLIARI et al., 2006; FERNANDÉZ et al., 2006).

Dentre as proteínas identificadas nesta pesquisa, destacam-se nove, cujas concentrações foram submetidas à análise estatística, devido à sua importância diagnóstica, sendo as demais identificadas pelos respectivos pesos moleculares (Apêndices A e B).

As concentrações séricas das frações proteicas nominalmente identificadas por SDS-PAGE encontram-se na Tabela 3. Dentre elas, destacam-se as proteínas de

fase aguda ceruloplasmina, transferrina, albumina, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, bem como as imunoglobulinas IgA, IgG de cadeia pesada e IgG de cadeia leve e a proteína não identificada nominalmente de 23.000 Da. Com exceção da albumina, as demais frações protéicas não sofreram influência dos fatores raciais. A maioria destas proteínas de fase aguda são glicoproteínas sintetizadas pelos hepatócitos como consequência de injúrias, traumatismos ou infecções teciduais (BAUMANN & GAULDIE, 1994).

A despeito de diferenças significativas observadas entre as raças na concentração sérica de albumina, pode-se inferir que possíveis diferenças estão relacionadas à metodologia empregada, pois os resultados desta pesquisa evidenciaram que os teores séricos dessa fração protéica obtidos pelo método colorimétrico não sofreram influências raciais. SOUZA et al. (2004) afirmaram ser a técnica do verde bromocresol mais fidedigna para a determinação da quantidade de albumina presente no soro dos animais.

**Tabela 3.** Médias e desvios padrão das concentrações séricas das frações proteicas obtidas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de vacas sadias das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão.

Proteínas (mg/dL)	Raças	
	Nelore (n= 15)	Girolanda (n= 15)
IgA	191±67,1A	228±86,5A
Ceruloplasmina	29,2±15,6A	38,6±15,8A
Transferrina	96,0±37,0A	78,62±42,8A
Albumina	4.602±454A	3.754±1.318B
IgG cadeia pesada	1.225±234A	1.585±973A
Haptoglobina	16,4±17,8A	14,6±22,7A
$\alpha_1$ -glicoproteína ácida	15,6±16,6A	16,3±11,7A
IgG cadeia leve	763±192A	829±333A
PM= 23.000Da	361±125A	436±209A

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ )

## 5.1.2 Experimento 2

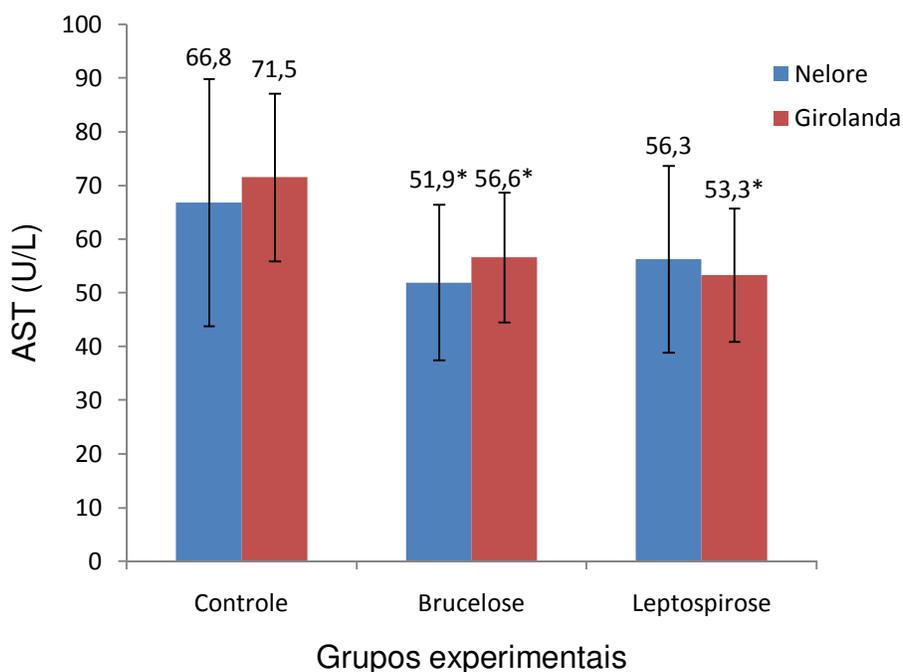
### 5.1.2.1 Enzimas

Os valores médios e desvios padrão da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (AST) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda encontram-se na Tabela 4 e na Figura 7.

**Tabela 4.** Médias e desvios padrão da atividade sérica da enzima aspartato aminotransferase (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n=25)	Girolanda (n=25)
Controle	66,8±23,0Aa	71,5±15,6Aa
Brucelose	51,9±14,5Ba	56,6±12,1Ba
Leptospirose	56,3±17,4Aa	53,3±12,4Ba

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



**Figura 7.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da atividade sérica de aspartato aminotransferase (AST) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Notou-se que a concentração sérica de AST diferiu significativamente entre os animais da raça Nelore do grupo controle e do grupo brucelose, mostrando uma redução na concentração de AST nos animais sororreagentes à brucelose. Constatou-se também uma diminuição significativa nos valores médios de AST nas vacas mestiças Girolanda dos grupos sororreagentes à brucelose e à leptospirose. De maneira geral, foi verificado, em todos os grupos sororreagentes, reduções na concentração de AST, sendo o menor valor médio observado nos animais da raça Nelore do grupo brucelose.

Estes resultados permitem considerar que não houve lesão hepatocelular e muscular em grau suficiente para provocar elevação da atividade sérica de AST nos animais sororreagentes para brucelose e leptospirose. A existência de diversos fatores causadores de variabilidade fisiológica na atividade desta enzima no soro de

bovinos, tais como sistema de criação, alimentação, gestação e lactação, não podem ser descartadas.

Os valores médios e desvios padrão da atividade sérica da enzima fosfatase alcalina (ALP) não evidenciaram diferenças significativas entre os grupos experimentais (Tabela 5). Os animais de todos os grupos avaliados apresentaram menor atividade da enzima ALP em relação aos animais do grupo controle, sendo os menores valores observados nas vacas do grupo brucelose para as duas raças avaliadas. De maneira geral a atividade desta enzima se manteve abaixo do limite superior de normalidade para bovinos (170U/L) relatado por KANEKO et al. (2008) indicando, portanto, ausência de influência direta ou indireta das infecções no parênquima hepático dos animais.

**Tabela 5.** Médias e desvios-padrão da atividade sérica da enzima fosfatase alcalina (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	106±46,0Aa	93,6±40,0Aa
Brucelose	72,4±51,1Aa	73,3±48,5Aa
Leptospirose	95,6±60,1Aa	79,1±41,9Aa

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

Quanto às atividades séricas das enzimas gamaglutamiltransferase (GGT) e creatinocinase (CK) (Tabelas 6 e 7, respectivamente), não foram observadas diferenças significativas nos valores médios entre os grupos para as raças estudadas. Todos os grupos avaliados apresentaram diminuição das atividades das enzimas GGT e CK em relação ao grupo controle. Os maiores valores das atividades enzimáticas foram constatados nos animais da raça Nelore do grupo leptospirose. De modo geral, os comportamentos de GGT e CK nos grupos experimentais estão de acordo com os valores estabelecidos por KANEKO et al. (2008) para a espécie

bovina. As variações na atividade enzimática de GGT, à semelhança de ALP, sugere a ausência de lesão hepatobiliar nos bovinos analisados.

**Tabela 6.** Médias e desvios padrão da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	22,0±9,75Aa	23,2±7,97Aa
Brucelose	21,9±6,23Aa	19,8±6,46Aa
Leptospirose	22,4±8,31Aa	20,1±7,29Aa

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

**Tabela 7.** Médias e desvios padrão da atividade sérica da creatinocinase (U/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na Região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	123±60,1Aa	73,9±25,2Ab
Brucelose	85,7±58,8Aa	70,6±34,6Aa
Leptospirose	92,4±60,8Aa	64,0±33,5Aa

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

### 5.1.2.2 Metabólitos

Na Tabela 8 e na Figura 8, são apresentadas as médias e desvios-padrão da concentração sérica de uréia das raças Nelore e mestiças Girolanda, segundo os grupos experimentais.

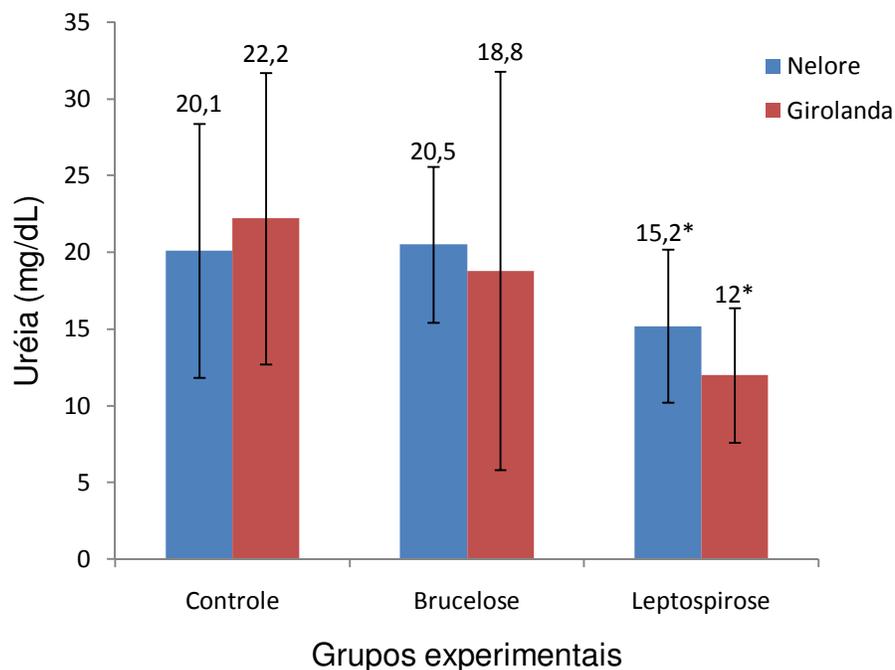
Notou-se que a concentração sérica de ureia da raça Nelore do grupo leptospirose apresentou menor valor médio, que diferiu significativamente dos valores registrados nos demais grupos experimentais (controle/brucelose). Também foi verificada uma diminuição significativa na concentração sérica de ureia nas vacas mestiças Girolanda do grupo leptospirose em relação ao grupo controle. Constatou-se, ainda, que os teores séricos de ureia das vacas mestiças Girolanda do grupo brucelose não apresentaram diferenças significativas, quando comparadas com as dos grupos controle para a mesma raça. Também foram notadas diferenças estatísticas nos valores médios de ureia no grupo leptospirose entre as raças estudadas, diferente dos demais grupos experimentais, os quais não apresentaram diferenças estatísticas entre as duas raças.

De maneira geral, os valores médios de uréia se mantiveram abaixo do limite superior considerado normal para a espécie (KANEKO et al., 2008). A redução nos valores médios dos animais do grupo leptospirose é indício de que a infecção por *Leptospira* provavelmente interferiu na função hepática.

**Tabela 8.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de ureia de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	20,1±8,29Aa	22,2±9,49Aa
Brucelose	20,5±5,08Aa	18,8±13,0ABa
Leptospirose	15,2±4,99Ba	12,0±4,39Bb

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



**Figura 8.** Representação gráfica dos valores médios e desvios-padrão da concentração sérica de ureia (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas das raças Nelore e Girolanda do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os valores médios e os desvios padrão das concentrações séricas de creatinina de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda dos grupos experimentais estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de creatinina (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	1,72±0,36Aa	1,60±0,34Aa
Brucelose	1,48±0,40Aa	1,54±0,25Aa
Leptospirose	1,55±0,36Aa	1,45±0,33Aa

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ )

Não foi constatada diferença significativa na concentração de creatinina entre as raças avaliadas dentro dos grupos e entre os grupos. Os animais do grupo controle apresentaram os maiores valores médios desse componente, quando comparados com os demais grupos experimentais.

De maneira geral, verificaram-se discretas variações na concentração sérica de creatinina entre os grupos. Os teores normais deste metabólito no soro dos bovinos indicam que as enfermidades bacterianas não produziram lesão renal em grau suficiente para alterar a sua excreção, visto que a creatinina constitui indicativo da função renal, sendo apenas filtrada, e não reabsorvida, pelos rins. Ademais, geralmente considera-se necessária redução de 75%, ou mais, na taxa de filtração glomerular para se detectar aumento significativo na concentração sérica deste catabólito (THRALL, 2007). Entretanto, apesar das variações os resultados se mantiveram na faixa de normalidade para a espécie.

As Tabelas 10, 11 e 12 apresentam as concentrações séricas de bilirrubina total (BT), bilirrubina indireta (BI) e de bilirrubina direta (BD). Quanto à concentração sérica de bilirrubina total e bilirrubina indireta, não foram constatadas diferenças significativas entre os grupos e dentro dos grupos para todas as raças estudadas (Tabela 10 e 11). Apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas entre os grupos experimentais observaram-se aumento dos valores médios de bilirrubina total e bilirrubina indireta nas vacas mestiças Girolanda dos grupos sororreagentes para brucelose e para leptospirose em relação ao grupo controle.

**Tabela 10.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina total (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	0,27±0,11Aa	0,22±0,09Aa
Brucelose	0,25±0,09Aa	0,25±0,10Aa
Leptospirose	0,27±0,12Aa	0,26±0,09Aa

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ )

**Tabela 11.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina indireta (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

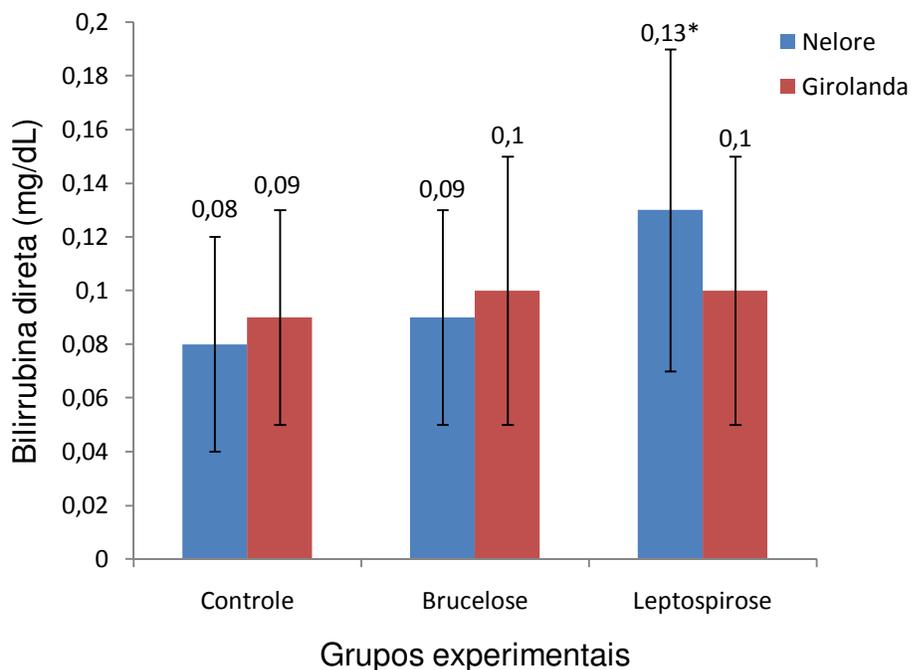
Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	0,19 ± 0,11Aa	0,13 ± 0,08Aa
Brucelose	0,16 ± 0,08Aa	0,15 ± 0,10Aa
Leptospirose	0,14 ± 0,11Aa	0,17 ± 0,07Aa

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ )

**Tabela 12.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina direta (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	0,08±0,04Aa	0,09±0,43Aa
Brucelose	0,09±0,04Aa	0,1±0,05Aa
Leptospirose	0,13±0,06Ba	0,10±0,05Aa

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ )



**Figura 9.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de bilirrubina direta (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas das raças Nelore do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Com relação à concentração sérica de bilirrubina direta, a Tabela 12 e Figura 9 evidenciam que os valores séricos de bilirrubina direta de vacas da raça Nelore do grupo leptospirose foram estatisticamente superiores aos demais grupos experimentais para a mesma raça. Entre as vacas da raça mestiças Girolanda, a concentração sérica de bilirrubina direta não diferiu significativamente entre os grupos avaliados. Os resultados obtidos para as duas raças, quando comparados dentro do mesmo grupo, não demonstraram diferenças estatisticamente significativas.

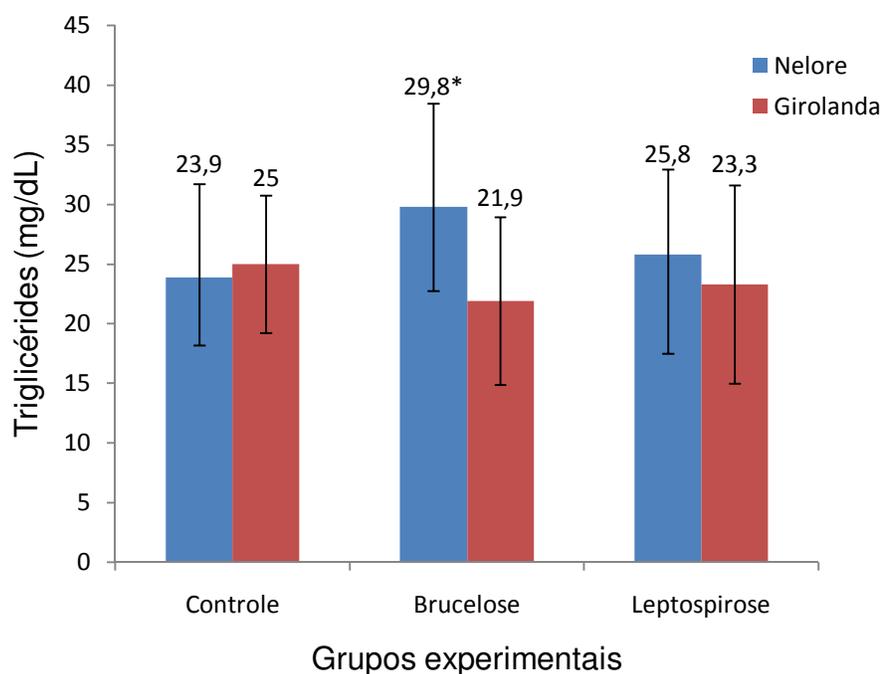
Os resultados obtidos para bilirrubina reforçam a afirmação anterior de que as infecções bacterianas não interferiram na função hepatobiliar ou a lesão hepática não foi suficiente para provocar hiperbilirrubinemia. Segundo THRALL, (2007) as hiperbilirrubinemias relevantes em ruminantes são decorrentes de hemólise. É possível assegurar que não houve hemólise intra ou extravascular ao ponto de ocasionar hiperbilirrubinemia nos animais infectados. Notou-se, ainda, que os resultados foram menores quando comparados com aqueles relatados por MEYER et al. (1992) e BARROS FILHO et al. (1994); no entanto, apesar das variações os resultados situam-se na faixa de normalidade para a espécie.

A avaliação dos resultados apresentados na Tabela 13 e na Figura 10 mostrou que a concentração sérica de triglicérides de vacas da raça Nelore apresentou variações entre os grupos experimentais, com aumento significativo nos valores médios do grupo brucelose, ao contrário dos resultados obtidos para as vacas mestiças Girolanda, que apesar de apresentarem diminuição na concentração sérica de triglicérides nos grupos brucelose e leptospirose, não foi constatado diferenças significativas entre os grupos experimentais. Constatou-se, ainda, que, entre as raças, os teores séricos de triglicérides apresentaram diferenças estatísticas dentro do grupo sororreagente à brucelose. De acordo com THRALL, (2007), o aumento na concentração de triglicérides pode advir de doenças infecciosas e inflamatórias que provocam disfunções metabólicas secundárias. Não se descartam outros fatores intervenientes, não avaliados neste experimento, tais como os nutricionais e as condições de estresse. Os teores séricos de triglicérides foram superiores aos considerados adequados para bovinos sadios citados por KANEKO et al. (2008).

**Tabela 13.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de triglicérides (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	23,9±7,81Aa	25,0±5,73Aa
Brucelose	29,8±8,68Ba	21,9±7,04Ab
Leptospirose	25,8±7,14Aa	23,3±8,31Aa

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ )



**Figura 10.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de triglicérides (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

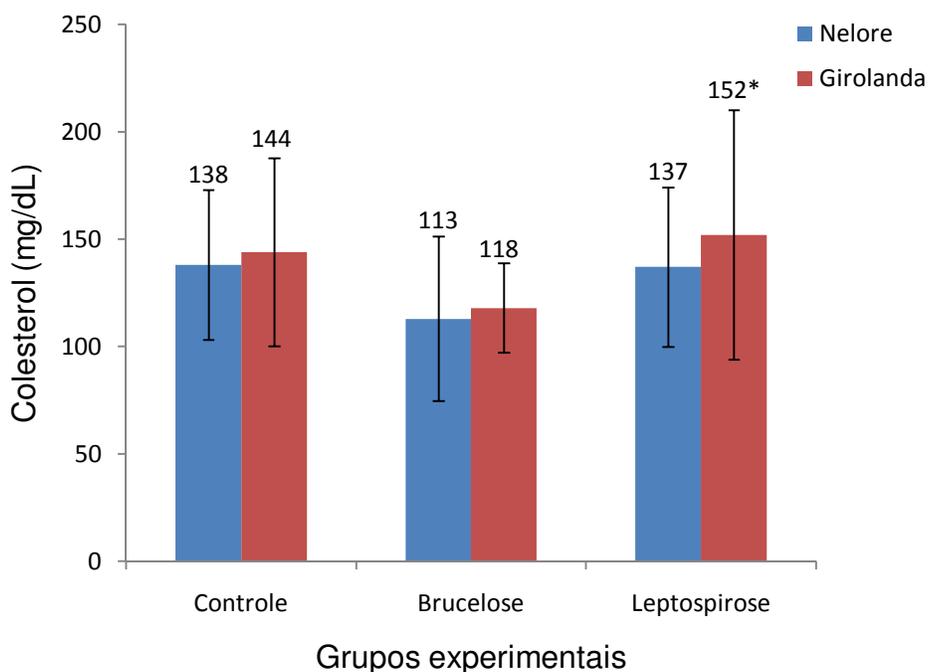
\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas da raça Nelore do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

A concentração sérica de colesterol de vacas da raça Nelore (Tabela 14 e Figura 11) não apresentou diferenças significativas entre os grupos experimentais. Entretanto, para as vacas mestiças Girolanda notou-se que a concentração de colesterol apresentou diferença estatística entre os dois grupos sororreagentes, com um aumento significativo nos animais do grupo leptospirose. Verificou-se, ainda, que, entre as raças, os teores séricos de colesterol não apresentaram diferenças estatísticas dentro dos grupos experimentais. Embora os resultados tenham mostrado alterações significativas nos animais mestiços Girolando dos grupos sororreagentes, os valores de colesterol permaneceram na faixa de normalidade para a espécie bovina (SMITH, 2009; KANEKO et al., 2008).

**Tabela 14.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de colesterol (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	138±34,8Aa	144±43,8ABa
Brucelose	113±38,2Aa	118±20,8Ba
Leptospirose	137±37,2Aa	152±58,2Aa

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



**Figura 11.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de colesterol (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas da raça Girolanda do grupo brucelose pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.2.3 Minerais

Os valores médios das concentrações de cálcio total, cálcio ionizado, fósforo, magnésio, sódio, potássio de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda estão apresentados nas Tabelas 15 a 20.

Não foram verificadas diferenças estatísticas nas concentrações de cálcio total entre os grupos de animais avaliados (Tabela 15). Os teores séricos de cálcio nos animais da raça Nelore sororreativos apresentaram aumento em relação ao grupo controle, enquanto nas vacas mestiças Girolanda foi notada redução nos teores de cálcio em relação ao grupo controle. Nos animais sororreagentes à brucelose

observaram-se diferenças estatísticas entre as duas raças avaliadas. Notaram-se que mesmo havendo discretas variações nos teores séricos de cálcio entre os grupos experimentais; ainda assim, permaneceram nos limites normais para a espécie bovina. Tais resultados assemelham-se aos obtidos por BIRGEL et al. (1991) e FAGLIARI et al. (1998), em fêmeas bovinas das raça Jersey e Nelore, respectivamente.

**Tabela 15.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de cálcio total (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	9,11±1,19Aa	8,92±0,94Aa
Brucelose	9,90±1,77Aa	8,86±1,51Ab
Leptospirose	9,55±1,63Aa	8,84±1,69Aa

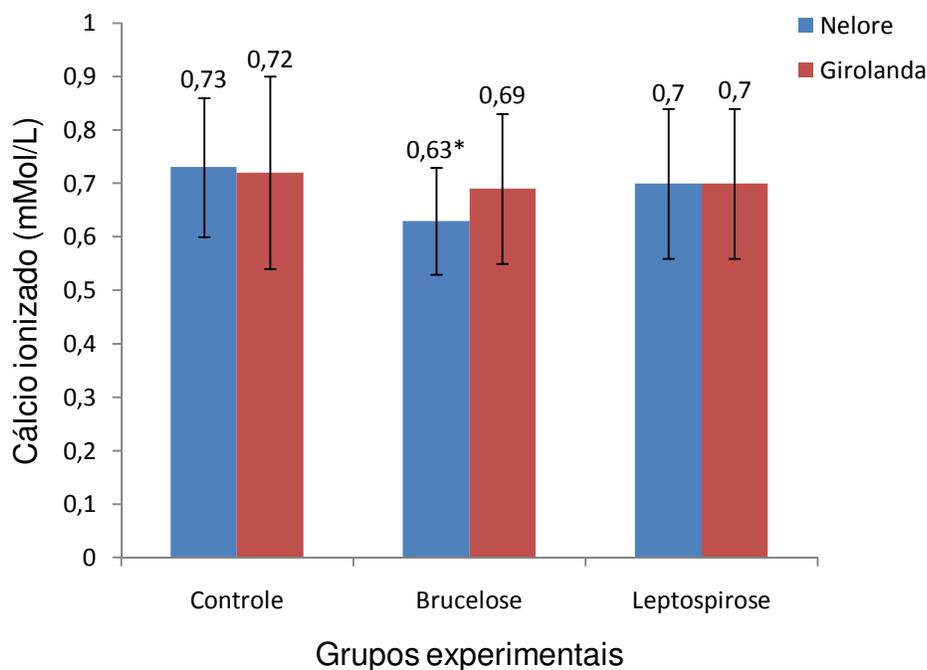
Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ ).

Notaram-se variações estatisticamente significantes entre os animais da raça Nelore do grupo controle com os sororreagentes à brucelose quanto à concentração de cálcio ionizado (Tabela 16 e Figura 12).

**Tabela 16.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de cálcio ionizado (mMol/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	0,73±0,13Aa	0,72±0,18Aa
Brucelose	0,63±0,10Ba	0,69±0,14Aa
Leptospirose	0,70±0,14ABa	0,70±0,14Aa

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



**Figura 12.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de cálcio ionizado (mMol/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas da raça Nelore do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

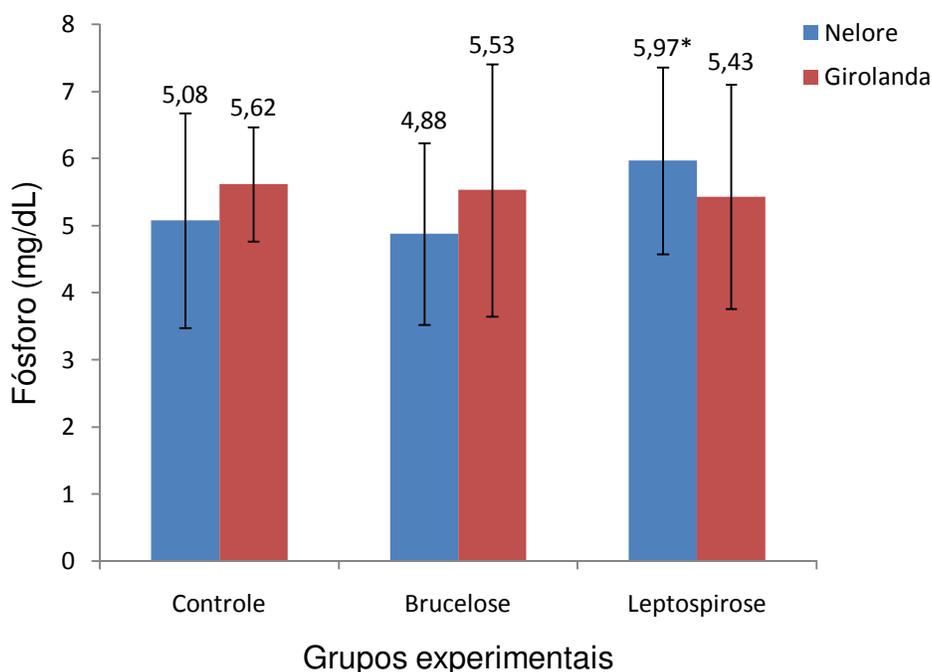
Verificou-se diminuição da concentração de cálcio ionizado nos animais do grupo brucelose; por outro lado, não foram constatadas variações significativas nos animais da raça mestiça Girolanda entre os grupos experimentais. Também não foram observadas diferenças significativas da concentração de cálcio ionizado entre as raças bovinas dentro dos grupos experimentais. É possível que a redução nos teores séricos de cálcio ionizado nos bovinos sororreagentes à brucelose seja em decorrência da menor concentração sérica de albumina. De acordo com THRALL (2007), vários fatores podem influenciar a concentração de cálcio ionizado, dentre eles a idade e os fatores nutricionais.

Quanto à concentração sérica de fósforo, verificou-se diferença significativa entre os animais da raça Nelore do grupo controle e os sororreagentes à leptospirose (Tabela 17 e Figura 13). Os valores médios apresentados pelas vacas mestiças Girolanda não diferiram entre os grupos estudados. Também, não foram constatadas diferenças estatísticas da concentração de fósforo entre os animais das raças estudadas dentro dos grupos experimentais. Embora os resultados tenham mostrado maior concentração sérica de fósforo nos animais sororreagentes à leptospirose, os valores médios permaneceram na faixa de normalidade para a espécie bovina (KANEKO et al., 2008), não sendo detectadas alterações que evidenciassem uma disfunção renal. Não se pode descartar a possibilidade da influência de outros fatores, tais como taxa de crescimento dos animais, absorção intestinal e mobilização óssea (THOMPSON & CAMPABADAL, 1978; KINCAID, 1988; HORST et al., 1994).

**Tabela 17.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de fósforo (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	5,08±1,6Aa	5,62±0,85Aa
Brucelose	4,88±1,35Aa	5,53±1,88Aa
Leptospirose	5,97±1,39Ba	5,43±1,67Aa

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



**Figura 13.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de fósforo (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas da raça Nelore do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Os valores obtidos para as concentrações séricas de magnésio, sódio e potássio de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda estão apresentados nas Tabelas 18, 19 e 20, respectivamente. Notou-se que os valores médios de magnésio, sódio e potássio dos animais avaliados não diferiram significativamente entre os grupos experimentais. Por outro lado, evidenciaram-se diferenças nos valores médios da concentração de potássio entre os animais do grupo controle de ambas as raças, com valores maiores para animais da raça Girolanda. De maneira geral, os teores séricos de magnésio, sódio e potássio apresentaram variações dentro dos limites fisiológicos considerados normais para a espécie bovina. Achados semelhantes foram relatados por SMITH (2009) e THRALL (2007).

**Tabela 18.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de magnésio (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	2,38±0,45Aa	2,60±0,41Aa
Brucelose	2,38±0,90Aa	2,38±0,39Aa
Leptospirose	2,42±0,40Aa	2,47±0,45Aa

Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ )

**Tabela 19.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de sódio de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	139±5,13Aa	137±4,30Aa
Brucelose	135±12,2Aa	138±4,20Aa
Leptospirose	138±8,32Aa	134±11,16Aa

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

**Tabela 20.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de potássio (mMol/L) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	5,63±1,03Aa	6,51±1,73Ab
Brucelose	5,40±1,74Aa	6,35±2,02Aa
Leptospirose	6,29±2,00Aa	5,78±1,42Aa

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

#### 5.1.2.4 Proteinograma sérico

Não se constatou diferença significativa entre as médias das concentrações séricas de proteína total entre os grupos experimentais estudados (Tabela 21). Entretanto, observaram-se diferenças significativas entre as raças do grupo sororreagente à brucelose, sendo superior o valor médio apresentado pelos animais da raça mestiça Girolanda. Os teores séricos de proteína total apresentaram variações dentro dos limites considerados normais para a espécie bovina. Observações semelhantes foram verificadas por OTTO et al. (1992) e CANAVESSI (1997) em bovinos.

**Tabela 21.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de proteína total (g/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	7,82±0,65Aa	7,90±0,66Aa
Brucelose	7,64±0,96Aa	8,17±0,83Ab
Leptospirose	7,85±0,96Aa	7,65±0,95Aa

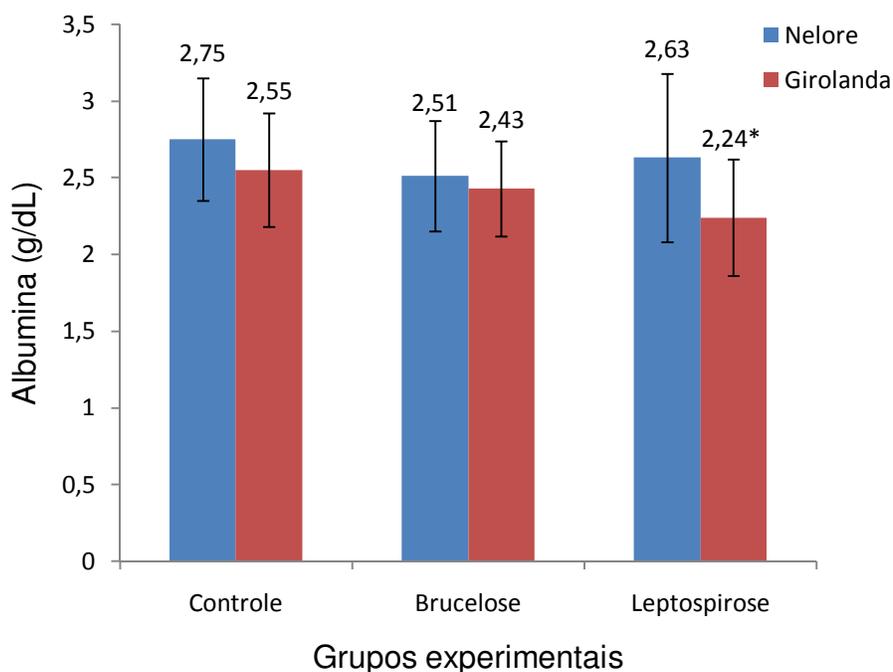
Valores seguidos de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ ).

Com relação à concentração sérica de albumina, foram notados maiores valores médios nos animais do grupo controle (Tabela 22 e Figura 14). Nas vacas da raça Nelore, os valores médios não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais. Porém, notou-se que os valores médios de albumina nos animais da raça mestiça Girolanda do grupo leptospirose foram significativamente diferentes, quando comparados com os valores dos animais da mesma raça do grupo controle. Verificou-se, ainda, que os valores de albumina foram significativamente diferentes entre as raças do grupo sororreagente à leptospirose. A menor concentração de albumina nos animais da raça girolanda do grupo leptospirose deveu-se, possivelmente, ao fato de a albumina ser uma proteína de fase aguda PFA negativa, cuja concentração se reduz gradualmente e de forma mais evidente em processos inflamatórios e infecciosos crônicos.

**Tabela 22.** Médias e desvios padrão da concentração sérica de albumina (g/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Grupos	Raças	
	Nelore (n= 25)	Girolanda (n= 25)
Controle	2,75±0,40Aa	2,55±0,37Aa
Brucelose	2,51±0,36Aa	2,43±0,31ABa
Leptospirose	2,63±0,55Aa	2,24±0,38Bb

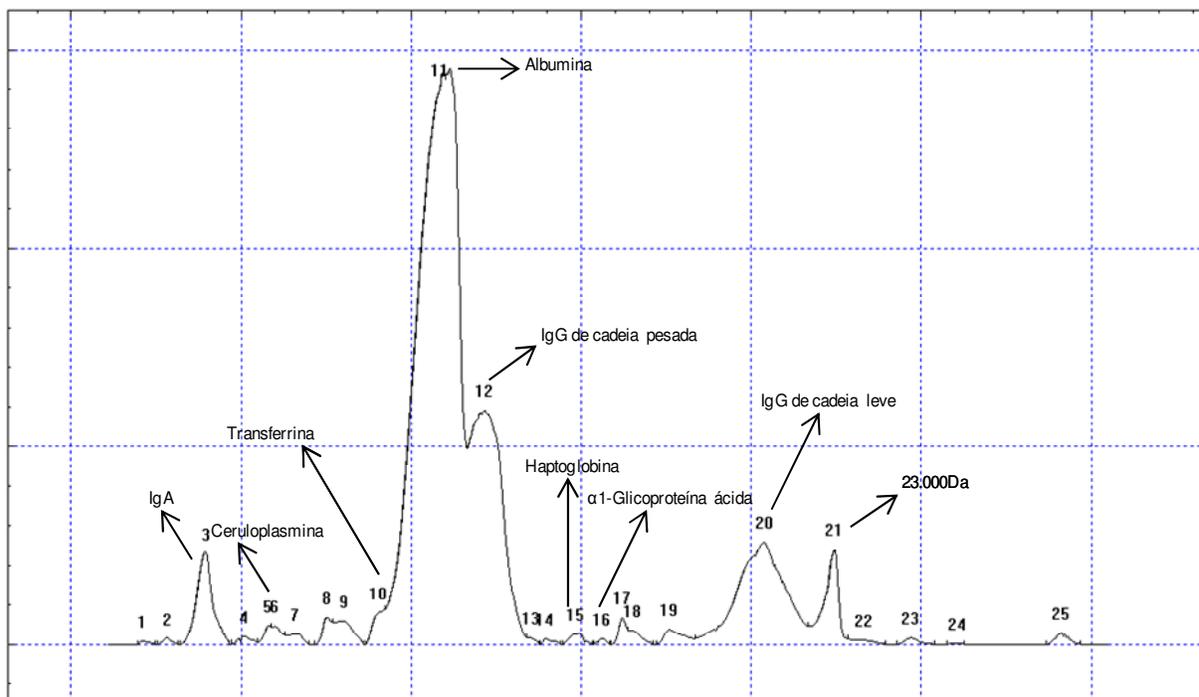
Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúscula na mesma coluna não diferem entre si ( $p>0,05$ ) pelo teste de Tukey.



**Figura 14.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de albumina (g/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas da raça Girolanda do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

No traçado densitométrico, obtido pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), foram identificadas 24 e 25 frações protéicas para os grupos sororreagentes à leptospirose e brucelose, respectivamente, para as raças Nelore e mestiças Girolanda, com pesos moleculares variando de 17 kDa a 239 kDa. Foi possível identificar, nominalmente, nove dessas frações protéicas (Figura 14). As frações protéicas nominalmente identificadas nos grupos experimentais foram submetidas à análise estatística, em razão da sua importância diagnóstica (Tabela 23).



**Figura 15.** Traçado densitométrico do proteinograma sérico de vacas da raça Nelore do grupo sororreagentes à brucelose, criadas na região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, apresentando 25 frações proteicas.

Os resultados apresentados nessa pesquisa revelaram que as concentrações de imunoglobulina A (IgA), ceruloplasmina e albumina diferiram significativamente entre os grupos experimentais. Já as concentrações de imunoglobulina G (IgG) de cadeia pesada, haptoglobina,  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, IgG de cadeia leve, transferrina e da proteína de peso molecular 23.000 Da, não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos experimentais para as raças estudadas (Tabela 23).

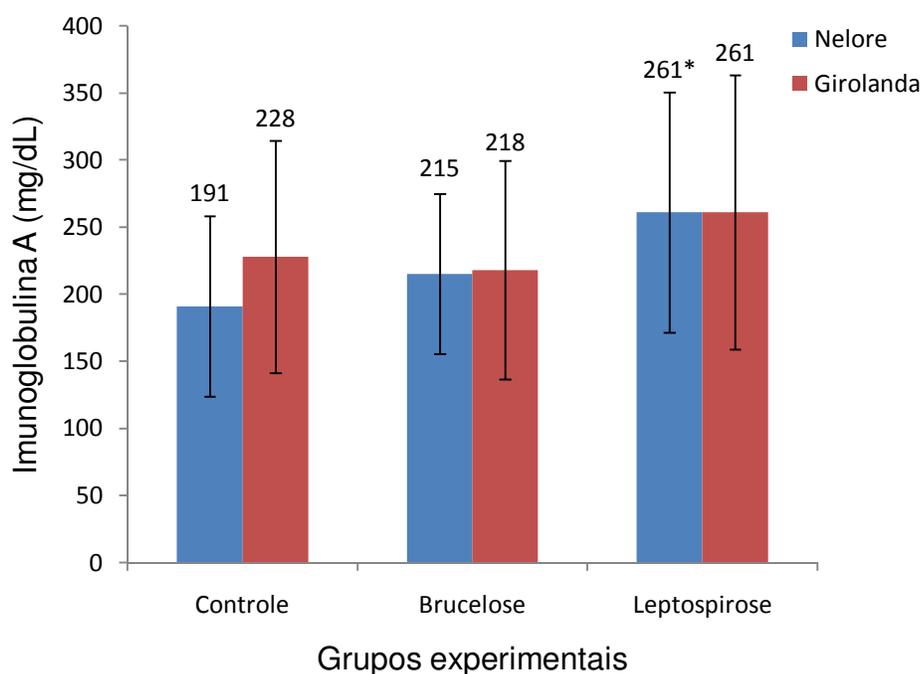
**Tabela 23.** Médias e desvios padrão da concentração sérica das frações protéicas obtidas em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, criadas na Região Centro-Oeste do Estado do Maranhão, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

Proteína e Grupo	Raças	
	Nelore	Girolanda
<b>Imunoglobulina A (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	191±67,1Aa	228±86,5Aa
Grupo Brucelose	215±59,7ABa	218±81,4Aa
Grupo Leptospirose	261±89,3Ba	261±102Aa
<b>Ceruloplasmina (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	29,2±15,6Aa	38,6±15,8Aa
Grupo Brucelose	46,4±21,4Ba	45,2±13,0Aa
Grupo Leptospirose	33,9±14,6ABa	34,2±16,6Aa
<b>Transferrina (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	96,0±37,0Aa	78,62±42,8Aa
Grupo Brucelose	96,2±74,2Aa	86,9±26,1Aa
Grupo Leptospirose	89,05±37,5Aa	80,8±38,8Aa
<b>IgG de cadeia pesada (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	1.225±234Aa	1.585±973Aa
Grupo Brucelose	1.450±338Aa	1.434±403Aa
Grupo Leptospirose	1.411±508Aa	1.377±518Aa
<b>Haptoglobina (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	16,4±17,8Aa	14,6±22,7Aa
Grupo Brucelose	12,7±6,47Aa	14,3±7,67Aa
Grupo Leptospirose	19,8±7,98Aa	14,7±4,08Aa
<b>α<sub>1</sub>-glicoproteína ácida (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	15,6±16,6Aa	16,3±11,7Aa
Grupo Brucelose	15,9±9,98Aa	23,4±9,28Aa
Grupo Leptospirose	15,3±7,57Aa	17,9±6,79A
<b>IgG de cadeia leve (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	763±192Aa	892±333Aa
Grupo Brucelose	912±387Aa	1.004±188Aa
Grupo Leptospirose	923±281Aa	939±353Aa
<b>PM 23.000 Da (mg/dL)</b>		
Grupo Controle	361±125Aa	436±209Aa
Grupo Brucelose	389±105Aa	384±80,6Aa
Grupo Leptospirose	329±107Aa	334±111Aa

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

Dentre as proteínas constatadas no traçado densitométrico, cinco são consideradas proteínas de fase aguda: ceruloplasmina, transferrina, albumina, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida. A maioria destas proteínas de fase aguda são glicoproteínas sintetizadas pelos hepatócitos como consequência de traumatismos ou infecções teciduais (BAUMANN & GAULDIE, 1994).

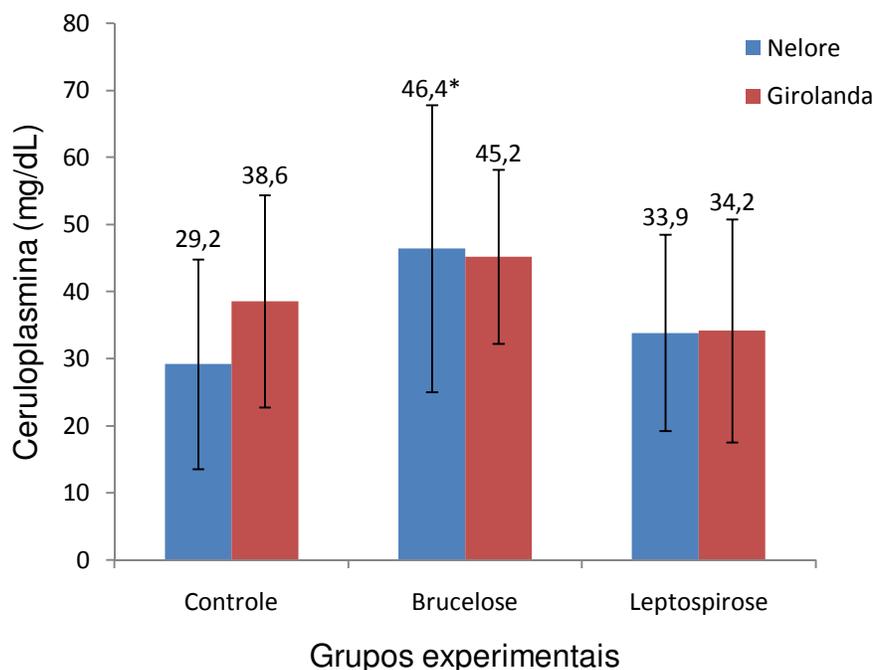
Notou-se concentrações séricas de IgA significativamente superiores nos animais da raça Nelore do grupo leptospirose, quando comparadas àquelas dos grupo controle. Por outro lado, não foi constatada diferença significativa nos teores de IgA de animais mestiços Girolando ( Figura 15). É provável que esse aumento se deva à maior síntese de imunoglobulinas devido ao estímulo imune humoral desencadeado pela infecção crônica por *Leptospira*, conforme relato de MEYER et al. (1995). Segundo KANEKO et al. (2008), os teores séricos de IgA em bovinos adultos situam-se entre 10 e 50 mg/dL, inferiores aos verificados no presente estudo.



**Figura 16.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de imunoglobulina A (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, distribuídas segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas da raça Nelore do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

As concentrações séricas de ceruloplasmina nas vacas da raça Nelore do grupo sororreagente à brucelose foram significativamente superiores àqueles verificados nas vacas do grupo controle. De modo geral foram constatados valores médios superiores dessa proteína nos animais do grupo sororreagente à brucelose quando comparados aos do grupo controle (Figura16). A ceruloplasmina é uma proteína de fase aguda positiva de atividade moderada em bovinos, cuja principal função é transportar cobre no sangue (OKUMURA et al., 1991). O aumento do teor de ceruloplasmina nos animais do grupo brucelose deveu-se, possivelmente, ao fato de a ceruloplasmina ser uma proteína de fase aguda e responder aos processos inflamatórios e infecciosos. De maneira semelhante, FAGLIARI et al. (2003) constataram aumento significativo dessa proteína em bezerros infectados por *M. haemolytica*, em comparação com bezerros saudáveis.



**Figura 17.** Representação gráfica dos valores médios e desvios padrão da concentração sérica de ceruloplasmina (mg/dL) de vacas das raças Nelore e mestiças Girolanda, segundo os grupos controle, sororreagentes para brucelose e sororreagentes para leptospirose.

\*Significativamente diferente dos valores médios de vacas da raça Nelore do grupo controle pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

As concentrações séricas de transferrina foram semelhantes nos grupos experimentais, apenas com moderadas variações nos seus valores médios. Essa proteína é considerada de fase aguda negativa, cujos teores séricos tendem a decrescer na presença de inflamação (KANEKO et al., 2008).

Quanto aos teores séricos de IgG de cadeia pesada, mesmo não havendo diferenças significativas entre os grupos experimentais, notou-se elevações e diminuições nos valores dos grupos sororreagentes, bem como de IgG de cadeia leve, sugerindo, de alguma maneira, interferência na resposta imune dos bovinos infectados.

Com relação às concentrações séricas de haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida não foram verificadas alterações significativas, diferentemente dos resultados relatados por FAGLIARI et al. (2007), em bovinos com fotossensibilização hepatógena. A determinação dos teores séricos dessas proteínas é útil no monitoramento da presença e da gravidade de inflamações agudas em bovinos.

As concentrações séricas da proteína de 23.000 Da foi menor nos grupos sororreagentes, indicando que a infecção influenciou a dinâmica desta proteína nos bovinos. Não foi encontrado relato na literatura da constatação dessa proteína no soro sanguíneo de bovinos, tampouco de sua função. Os resultados indicam que parece se tratar de uma proteína de fase aguda negativa.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem as seguintes conclusões:

### **1º Experimento**

- As atividades séricas das enzimas aspartato aminotransferase, gamaglutamiltransferase e fosfatase alcalina não foram influenciadas pela raça, ocorrendo apenas discretas variações dentro dos limites considerados normais para bovinos; em contraposição, as atividades séricas de creatinocinase apresentaram variações sob influência de fatores raciais, com maiores valores em fêmeas da raça Nelore.
- Os teores séricos de uréia, bilirrubina direta, triglicérides, colesterol, proteína total, cálcio total, fósforo, magnésio, sódio e potássio não apresentaram variações significativas em função dos fatores raciais e permaneceram na faixa de normalidade para a espécie. Os fatores raciais influenciaram significativamente os teores séricos de creatinina, bilirrubina total e bilirrubina indireta, pois os valores obtidos em fêmeas da raça Nelore foram marcadamente maiores do que os observados nas fêmeas Girolanda. O teor de cálcio ionizado foi maior nas fêmeas Girolanda.
- O fracionamento eletroforético das proteínas do soro sanguíneo de bovinos sadios, permitiu a identificação de cinco proteínas de fase aguda e de IgA e IgG, bem como a proteína não identificada nominalmente de peso molecular 23.000 dáltons. Não há relato na literatura da constatação dessa proteína no soro sanguíneo de bovinos, tampouco de sua função. Os resultados indicam que as concentrações séricas das frações protéicas não apresentaram variações sob influência de fatores raciais.

## **2º Experimento**

- As infecções por brucelose e leptospirose, indicadas pela sororreatividade, não influenciaram as atividades séricas de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e creatinocinase; por outro lado, as atividades séricas de aspartato aminotransferase foram significativamente menores nos bovinos Girolando sororreagentes à brucelose e leptospirose quando comparadas àquelas de bovinos sadios.
- A sororreatividade influenciou os teores séricos de uréia, bilirrubina direta, triglicérides, colesterol, cálcio ionizado e fósforo, com maiores valores em relação aos animais sadios. Em contrapartida, os teores séricos de creatinina, bilirrubina total e bilirrubina indireta, cálcio total, magnésio, sódio e potássio foram semelhantes nos animais sororreagentes e nos animais sadios.
- O fracionamento eletroforético das proteínas do soro sanguíneo de bovinos, sadios ou sororreagentes à brucelose e leptospirose, permitiu a identificação de cinco proteínas de fase aguda e de IgA e IgG, notando-se maior concentração de ceruloplasmina e de IgA nos animais sororreagentes. A concentração sérica da proteína de peso molecular 23.000 dáltons foi menor nos animais do grupo sororreagente à leptospirose, indicando que a infecção influenciou a dinâmica desta proteína nos bovinos.

## 7. REFERÊNCIAS <sup>6</sup>

Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão (AGED/MA). Disponível em <[www.aged.ma.gov.br](http://www.aged.ma.gov.br).> Acesso em: 01 nov 2008.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**; bacteriosis y micosis. 3ed. Washington: OPS, 2001. v.1, 398 p.

AGNES, F.; SARTORELLI, P.; BISSO, M. C.; DOMINONI, S. Ionized calcium in calf serum: relation to total serum calcium, albumin, total protein and pH. **J. Vet. Med. A., Physiol. Pathol. Clin. Med.**, Berlin, v.40, n.8, p.605-608, 1993.

AGUIAR, D. M. **Prevalência de anticorpos anti-neospora caninum, anti-brucella abortus e anti-leptospira spp. em bovinos da zona rural do município de Montenegro, Rondônia**: estudo de possíveis fatores de risco. 2004. 120 f. Dissertação (Mestrado) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

AKASHI, R. S. de B. **Brucelose: prevalência bovina e humana nos matadouros do município de Imperatriz - MA**. 1998. 42f. Monografia (Curso de Especialização em Inspeção Sanitária e Industrial dos alimentos de origem animal) Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, 1998.

AYRES, M. C. C. **Eritrograma de zebuínos (*Bos indicus*, Linnaeus 1758) da raça Nelore, criados no Estado de São Paulo: Influência de fatores etários, sexuais e do tipo racial**. 1994. 141f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ARAUJO, V. E. M.; MOREIRA, E. C.; NAVEDA, L. A. B.; SILVA, J. A.; CONTRERAS, R. L. Frequência de aglutininas anti-Leptospira interrogans em soros sanguíneos de bovinos em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 57, n.4, p. 430-435, 2005.

---

<sup>6</sup> ABNT – NR 6023

BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Editora Roca, 2007. 575 p.

BALDWIN, C. J.; ATKINS, C. E. Leptospirosis in the dog. **Compêndio Continuado de Educação e Prática Veterinária**, v. 9, n. 5, p. 499-508, 1987.

BASKERVILE, A. Histopathological aspects of diagnosis of leptospirosis. In: ELLIS, W. A.; LITTLE, T. W. A. (eds). **The present state of leptospirosis diagnosis and control**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986, p.33 - 43.

BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. **Today**, v.15, p.74- 80, 1994.

BARROS FILHO I. R.; D' ANGELINO, J. L.; BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J.; AYRES, J. N.; COSTA, J. N. Contribuição ao estudo da bioquímica clínica em BOVINOS da raça Canchim, criados no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., 1994, Olinda, PE. **Anais...** p.34.

BARROS FILHO I. R. **Contribuição ao estudo da bioquímica clínica em zebuínos da raça Nelore (*Bos indicus*, Linnaeus 1758) criados no Estado de São Paulo**. 1995. 133 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

BIRGEL, E. H.; BIRGEL Jr., E.H.; D'ANGELINO, J.L.; TAKAHIRA, R. K.; SILVA, M. M. Determinação de valores padrões bioquímicos do soro sanguíneo de bovinos sadios da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 46., 1991, São Paulo. **Anais...** São Paulo: SPMV, 1991. p. 37.

BIRGEL JÚNIOR, E.H.; SALVATORE, L. C. A.; NEVES, F. S.; MIRANDOLA, R. M. S.; SOUZA, P. M.; BIRGEL, E. H. Dinâmica Das Proteínas Séricas de Fêmeas Bovinas da Raça Holandesa Naturalmente Infectadas pelo Vírus da Leucose dos Bovinos. **Ciên. Rur.**, Santa Maria, v. 31, n. 4, p. 615-619, 2001.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; NEVES, F. S.; SALVATORE, L. C. A.; MIRANDOLA, R. M. S.; TÁVORA, J. P. F.; BIRGEL, E. H. Avaliação da influência da gestação e do puerpério sobre a função hepática de bovinos da raça Holandesa. Jaboticabal: **Ars Vet.**, v. 179, n. 2, p. 172-178, 2003.

BOTELHO, A. P. et al. Recuperação de *Brucella abortus* do leite *in natura* procedente de vacas soropositivas dos municípios de Pedra e Venturosa – PE. Aspectos de Saúde Pública. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v. 14, n. 73, p. 72-77, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de controle de zoonoses e animais peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. 2. ed. Brasília, 1995. 98p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal - PNCEBT. **Inquérito Soroepidemiológico da Brucelose**: manual de procedimentos. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2001. 24 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **Manual técnico do programa nacional de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose - PNCEBT**. Brasília, 2004. 132 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - Departamento de Saúde Animal, 2006. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) – Manual Técnico**. Brasília: MAPA / DAS / DSA, 2006, 188p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 816 p.

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. Belo Horizonte: **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 53, n. 05, p. 629-634, 2001.

BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. chap 4, p. 87- 98.

CALDAS, E. M.; FEHRINGER, W. T.; SAMPAIO, M. B. Aglutininas anti-leptospiras em *Rattus norvegicus* e *Didelphis marsupialis*, em Salvador-Bahia. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária. Universidade da Bahia**, Salvador, v. 15. n. 1, p. 43-50, 1992.

CANAVESSI, A. M. O. **Valores do perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*) criados na região de Botucatu, São Paulo: Influência dos fatores etários e sexuais**. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

CARDOSO, W. C. **Incidência de brucelose bovina e humana em propriedades leiteiras da Ilha de São Luis – MA**. Monografia (Trabalho de graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, 1999.

CENTER, S. A.; HORNBUCKLE, W. E.; HOSKINS, J. D. O fígado e o pâncreas. In: HOSKINS, J. D. (Ed.) **Pediatria veterinária: cães e gatos do nascimento aos seis meses**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997. cap. 11, p. 172-204.

CINGOLANI, H. E.; HOUSSAY, A. B. **Tratado de Fisiologia Medica**: In: COVIELLO, A. Fisiologia do rim. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 452 - 461.

COLE, D.J.; ROUSSEL, A.J.; WHITNEY, M.S. Interpreting a bovine CBC: Evaluating the leukon and acute-phase proteins. **Vet. Med.**, v. 92, n.5, p. 470-478, 1997.

COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

CONNER, J. G.; ECKERSALL, P. D.; WISEMAN, A.; AITCHISON, T. C.; DOUGLAS, T. A. Bovine acute phase response following turpentine injection. **Res. Vet. Sci.**, London, v. 44. p. 82-88, 1988.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. H. **Enfermidades dos animais domésticos**. 2. ed. São Paulo: Medsi, 1994. 843 p.

COSTA, M. C. R.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; MARTINS, N. R. S. Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.50, n.1, p.11-17, 1998.

COSTA Jr., G. S.; MINEIRO, A. L. B. B; MACEDO, N.A. Anticorpos anti-leptospiras em soros de ovinos da microrregião de Teresina, PI. In: CONBRAVET, 31., 2004, São Luís. **Anais...**

COSTA, N. A; SIMÃO, L. C. V.; FAGLIARI J. J.; SANTOS R. A.; AFONSO J. A. B.; MENDONÇA C. L. Alterações na concentração do fibrinogênio e da haptoglobina em ovelhas com mastite infectadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*, 2007. In: **Congresso Brasileiro de Buiatria, 7.**, Curitiba. **Anais...CD-RON**

DE NARDI, G. **Perfil sorológico de anticorpos anti-Leptospira sp. em búfalos (Bubalus bubalis) vacinadas com tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose (Bacterina e Membrana externa)**. 2005. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.

DOGANAY, M.; AYGEN, B. Human brucellosis: an overview. **Int. J. Infect. Dis.**, Chicago, v.7, n.3, p.173-182, 2003.

EATON J. W.; BRANDT P.; MAHONEY J.R. Haptoglobin: A natural bacteriostat, **Science**, Washington, v. 215, p. 691–693, 1982.

ELLIS, W. A. Leptospirosis. In: PALMER, S.R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D.I.H. **Zoonoses**. New York: Oxford University Press, 1998. p.115-26.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract**, Philadelphia, v. 10, p. 463-478, 1994.

FAGLIARI, J. J.; McCLENAHAN, D.; EVANSON, O. A.; WEISS, D. J. Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimental alimentary laminitis. **AM. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.59, n.10, p.1234-1237, 1998.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hípidos e de eqüinos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 559-567, 2002.

FAGLIARI, J. J., WEISS, D. J.; McCLENAHAN, D.; EVANSON, O. A. Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 383-387, 2003.

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. Belo Horizonte: **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.3, p.450-453, 2006.

FAGLIARI, J. J.; PASSIPIERI, M.; OKUDA, H T.; SILVA, S. L.; SILVA, P. C. Serum protein concentrations, including acute phase proteins, in calves with hepatogenous photosensitization. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 59, n. 6, p. 1355-1358, 2007.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and letospirosis**. 2 nd. Melbourne: Medicine Science, 1999. 272p

FÁVERO, A. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose Bovina – Variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1948 a 1997 em rebanhos de 21 Estados do Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 29 – 35. 2001.

FERNANDÉZ, S.Y.; JESUS, E.E.V.; PAULE, B.J.A.; UZÊDA, R.S; ALMEIDA, M.A.O.; GUIMARÃES, J.E. Proteinograma de caprinos da raça Pardo-Alpina infectados naturalmente por parasitos gastrintestinais. Belo Horizonte: **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 58, n.2, p.279-282, 2006.

FREUDENSTEIN, H.; HEIN, B. Potency of leptospiral vaccines and protection against chronic infection in golden hamsters. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 14, n. 3, p. 229-234, 1991.

GANHEIM, C.; ALENIUS, S.; WALLER, K. P. Acute phase proteins as indicators of calf herd health. **Vet. J.**, London, v. 173. p. 645-651. 2007.

GOMES, A. T.; LEITE, J. L. B.; CARNEIRO, A. V. **O agronegócio do leite no Brasil**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 63-72.

GONZÁLEZ, F.H.D., BARCELLOS, J., PATIÑO, H.O., et al. **Perfil metabólico em ruminantes – seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000, 106p.

GONZÁLEZ, F. H. D. Perfil Metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivo da Faculdade de Veterinária**, v. 23, n. 1, p. 33-44, 1992.

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. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. **Anais..** Gramado: SBMV e SOVERGS, 2002. p. 5-17.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2007. 198 p.

GODSON, D.L.; CAMPOS, M.; ATTAH-POKU, S.K.; REDMOND, M.J.; CORDEIRO, D.M.; SETHI, M.S.; HARLAND, R.J.; BABIUK, L.A. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 51, n. 3-4, p. 277-292, 1996.

GUIDO, M. C.; GRASSO, L. M. P. **Brucelose**, 2005. Disponível em: [www.mcguido.vet.br/brucelose.htm](http://www.mcguido.vet.br/brucelose.htm). Acesso em: 20 de jun. de 2007.

GREGORY, L.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; ARAÚJO, W. P.; BIRGEL, E. H. Valores de referência da atividade enzimática da aspartato-aminotransferase e da gama-glutamilttransferase em bovinos da raça Jersey. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 51, n. 6, 1999.

GREGORY, L.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; BENESI, F. J.; DE ARAÚJO, W. P.; BIRGEL E. H. Valores de Referência dos Teores Séricos da Ureia e Creatinina em bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo Vírus da Leucose dos Bovinos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 339-345, 2004.

GRÖNLUND, U.; SANDGREN, C. H.; WALLER, K. P. Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. **Vet. Res.**, v. 36. p. 191-198, 2005.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. M., Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. **Vet. Bull.**, London, v. 64, n. 11, p. 1009-1018, 1994.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

HEINEMANN, M. B.; GARCIA, J. F.; NUNES, C. M.; MORAIS, Z. M.; GREGORI, F.; CORTEZ, A.; VASCONCELLOS, S. A.; VISINTIN, J. A.; RICHTZENHAIN, L. J. Detection of leptospire in bovine semen by polymerase chain reaction. **Aust. Vet. J.**, Brunswick, v. 77, n. 1, p. 32 – 34, 1999.

HORADAGODA, N. U.; KNOX, K. M. G.; GIBBS, S. W., REID, S. W. J.; HORADAGODA, A.; EDWARDS, S. E. R.; ECKERSALL, P. D. Acute phase protein in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. **Vet. Rec.**, London, v. 144. p. 437-441. 1999.

HORT, G. M.; WEISENBURGER, J.; BORSDORF, B.; PETERES, C.; BANAI, M.; HAHN, H.; JACOB, J.; MIELKE, M.E. Delayed type hypersensitivity-associated disruption of splenic periarteriolar lymphatic sheaths with temporary loss of IFN $\gamma$  production and impaired eradication of bacteria in *Brucella abortus*-infected mice. **Microbes Infect.**, Paris, v. 5, n. 2, p. 95-106, 2003.

HORST, R.L.; GOFF, J.P.; RIEINHARDT, T.A. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. Ames: **J. Dairy Sci.**, v. 77, p. 1936-1951, 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – **IBGE**. Disponível em: <www.ibge.gov.br.> acesso em: 03 fev 2008

JOHNSON, P. J. Electrolyte and acid-base disturbance in the horse. **Vet. Clin. North Am. Equine Pract., Philadelphia**, v. 11, n. 3, p. 491-512, 1995.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

KENT, J. Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis. **Brit. Vet. J.**, London, v. 148, p. 279-282, 1992.

KINCAID, R. Macroelementos para los ruminantes. In: CHURCH, D.C. **El ruminant: fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1988. p. 373-390.

LACERDA, L. M. Brucelose em trabalhadores de matadouros do município de São Luis, MA, 1997. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v. 14, n. 68/69, p. 62-65, 2000.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 277, p. 680-685, 1970

LAVEZZO O. E. N. M.; LAVEZZO W.; WECHSLER F. S.; SARTORI M. S.; ROCHA G. P.; MEDINA M. K. J; PADOVANI N. Toxicidade hepática em ovinos, induzida pelo consumo de cama de frango em diferentes níveis. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 33. 1996, Fortaleza. Anais... p. 205-207.

LECCHI, C.; CECILIANI, F.; BERNASCONI, S.; FRANCIOSI, F.; BRONZO, V.; SARTORELLI, P. Bovine alpha-1 acid glycoprotein can reduce the chemotaxis of bovine monocytes and modulate CD18 expression. **Vet. Res.**, v. 39, n. 5, p. 50, 2008.

LEITE, R. M. H.; THOMPSON, J. A.; GONÇALVES, V. S. P.; LEITE, R. C.; BANDEIRA, D. A.; LAGE, A. P. A random sample survey of bovine brucellosis in the State of Paraíba, Brazil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 40, p. 170-174, 2003. Suplemento

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **J. Clin. Microbiol. Vet.**, Washington, v. 14, p. 296-326, 2001.

MACEDO, N. A.; VASCONCELLOS, S. A.; HIGA, Z. M. M. Leptospirose em bovinos leiteiros e trabalhadores no município de Timon, MA. In: CONBRAVET, 24., 1996, Goiânia. **Anais...** p.131.

MANCIO, A. B. **Plano nutricional, gonadotrofina coriônica humana (hCG) e amamentação na função reprodutiva e metabólica de fêmeas bovinas.** 1994. 158 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

MAPA: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose.** Brasília, 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br./sda/inicial.htm>> Acesso em: 01 jul. 2005

MATHIAS, L.A.; MACMILLAN, A.P.; GREISER-WILKE, I.; MOENNING, E.V. Comparação entre a reação de fixação de complemento, teste imunoenzimático indireto e teste imunoenzimático competitivo no diagnóstico sorológico da 54 brucelose em bovinos procedentes de rebanhos com histórico da enfermidade. **Ars Vet.**, Jaboticabal, v. 11, n. 1, p. 47-55, 1995.

MEYER, D. J.; COLES, E.; RICH, L. J. **Veterinary Laboratory medicine.** Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. 350 p.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico.** São Paulo: Roca, 1995. 308p.

MENDES, L. M. **Prevalência da brucelose em grupos ocupacionais do matadouro industrial de São Luis, no ano de 1993.** Monografia (Trabalho de graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 1994.

METCALF, H. E.; LUCHSINGER, D. W.; RAY, W. C. Brucellosis. In: BERAN, G. W.; STEELE, J. H. (Eds.). **Handbook series in zoonosis. Section A: Bacterial, Rickettsial, Chlamydial, and Mycotic.** 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 9-39.

MOLNAR, L.; MOLNAR, E.; TURY, E. Concepções modernas para o diagnóstico da brucelose. **Rev. Brás. Med. Vet.**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 4, p. 157-162, 1997.

MORAIS, M.G.; RANGEL, J.M.; MADUREIRA, J.S.; SILVEIRA, A.C. Variação sazonal da bioquímica clínica de vacas anelradas sob pastejo contínuo de *Brachiaria decumbens*. Belo Horizonte: **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 2, n. 52, p. 98-104, 2000

MUNDIM, A. V. **Perfil bioquímico sérico em potros Bretão Postier e cães Doberman em fase de crescimento e de cabras Saanen nos diferentes estádio de lactação.** 2008. Tese. (Doutorado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **Vet. J.**, London, v. 168, p. 28–40, 2004.

NICOLETTI, P. A short history of brucellosis. **Vet. Microbiol.**, Amsterdam, v. 90, p. 5 - 9, 2002.

NICOLETTI, J. L. M.; KOHAYAGAWA, A.; GANDOLFI, W.; IAMAGUTI, P; QUINTANILHA, A. M. N. P. Alguns teores de constituintes séricos e hemograma em vacas da raça gir, Holandês Preto e Branco e Mestiças (Girolanda), na região de Botucatu-SP. **Arq. Esc. Vet. UFMG**, Belo Horizonte, v. 33, n. 1, p. 19-30, 1981.

NIELSEN, K.; GALL.; SMITH, P.; KELLY, W.; YEO, J.; KENNY, K.; HENEGHAN, T.; MCNAMARA, S.; MAHER, P.; O'CONNOR, J.; WALSH, B.; CARROLL, J.; ROJAS, X.; ROJAS, F.; PEREZ, B.; WULFF, O.; BUFFONI, L.; SALUSTIO, E.; GREGORET, R.; SAMARTINO, L. E.; DAGER, A.; LUNA-MARTINEZ, E. Fluorescence polarization assay for the diagnosis of bovine brucellosis: adaptation to field use. **Vet. Microbiol.**, Amsterdam, v. 21, n. 80, p. 163-170, 2001.

NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by sorology. **Vet. Microbiol.**, Amsterdam, v. 90, p. 447-59, 2002.

NUNES, A. C. B. T. **Prevalência da Brucelose Bovina em Rebanhos Leiteiros da Microrregião de Batalha – 2001.** 37 f. Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.

OLIVEIRA, F. N. **Concentrações sangüíneas de progesterona e metabólitos lipídicos em novilhas tratadas com Norgestomet e valerato de estradiol (Syncro-Mate B) e submetidas à dieta hiperlipidêmica.** 1995. 75 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1995.

OIE. Organização Internacional de Epizootia. **Código Zoosanitário Internacional.** 11. ed, 2001. Disponível em: <<http://www.oie.int.htm>>. Acesso em: 23 set. 2006

OMS. Organización Mundial de la Salud. **Comité Mixto FAO/OMS de expertos en brucelosis.** Genebra, 1986, 149 p. (Série de informes técnicos, 740).

OKUMURA, M.; FUJINAGA, T.; YAMASHITA, K.; TSUNODA, N.; MIZUNO, S. Isolation, characterization, and quantitative analysis of ceruloplasmin from horses. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v. 52, n. 12, p. 1979-1985, 1991.

ORLANDELLI, R. C. **Brucelose bovina.** 2008. Disponível em: <[www.meuartigo.brasilecola.com/biologia/brucelose\\_bovina.htm](http://www.meuartigo.brasilecola.com/biologia/brucelose_bovina.htm)> Acesso em: 25 fev. 2008

OSÓRIO, A. L. A. R., MONTEIRO, L. A. R. C. **Brucelose bovina.** Campo Grande: Série Ed. UFMS, 2006. p. 9-57.

OTTO, F.; IBANEZ, A.; CABALLERO, B.; BOGIN, E. Blood profile of Paraguayan cattle in relation to nutrition, metabolic state, management and race. **Isr. J. Vet. Med.**, Raanana, v. 47, n. 3, p. 91-9, 1992.

PACHECO, W. A. **Excreção de *Brucella abortus*, estirpe B19 pelo leite e urina de fêmeas bovinas de diferentes faixas etárias vacinadas contra brucelose e sua relação com o ciclo reprodutivo.** 2007. Dissertação (Mestrado) - Disponível em: <[www.teses.usp.br/teses/disponiveis](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis)>. Acesso em: 22 agost 2008

PAULIN, L. M. **Estudo comparativo de diferentes técnicas sorológicas para diagnóstico de infecções por *Brucella abortus* em búfalos (*Bubalus bubalis*).** 2006. 92f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006

PAULIN, L. M. Artigo de revisão – brucelose. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 239-249, abri./jun. 2003.

PAULIN, L. M.; FERREIRA NETO, J. S. **Combate à brucelose bovina: situação brasileira**. Jaboticabal: Funep, 2003. 154 p.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAAR, D, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Vet. Res.**, v. 35. p. 163-187, 2004.

PINTO, M. R. A. **Avaliação hematológica de búfalas da raça Murrah reagentes ou não para brucelose**. 2003. 122 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

PIZZUTI, G. P.; SALVATORI, G. C. Some blood parameters of water buffalo in different physiological conditions. **Bolletino della Societa Italiana di Biologia Speciali**, Roma, v. 69, n. 10, p. 649-654, 1993.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. **Microbes Infec.**, Paris, v. 2, p. 1265-1276, 2000.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. Brucellosis in Brazil. **Vet. Microbiol.**, Amsterdam, v. 90, p. 55-62, 2002.

RINALDI, M.; CECILIANI, F.; LECCHI, C.; MORONI P.; BANNERMAN D. D. Differential effects of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein on bovine neutrophil respiratory burst activity and IL-8 production. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Amsterdam, v. 126, n. 3-4, p. 199–210, 2008.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. Hematology and biochemistry In: \_\_\_\_\_. **The athletic horse**. Philadelphia: Saunders Company, 1994. cap. 2, p. 63-78.

ROXO, E. Atual situação brasileira de Brucelose nos rebanhos animais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., 2000. Águas de Lindóia. **Resumo...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2000.

SALLES, R. S.; LILENBAUM, W. Leptospirose bovina no Brasil. **CFMV**, Brasília, v. 21, p. 42-46, 2006.

SAMARTINO, L. E.; GREGORET, R. J; GALL, D.; NIELSEN, K. Fluorescence polarization assay: application to the diagnosis of bovine brucellosis in Argentina. **J. Immunoassay.**, Monticello, v. 20, p. 115-120, 1999.

SAS – STATISTICS ANALYSIS SYSTEM **SAS User's guide. Versão 9.1.** Cary. SAS Institute, 2005, Cary, NC, USA.

SEGELMARK, M.; PERSSON, B.; HELLMARK, T.; WIESLANDER, J. Binding and inhibition of myeloperoxidase (MPO): a major function of ceruloplasmin? **Clin. Exp. Immunol.**, Oxford, v. 108. p. 167-174. 1997.

SMITH, B. P. **Large animal internal medicine.** 4<sup>th</sup>ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2009. 1821 p.

SOUZA, R.M.; GARCIA, N.A.C.R.; BIRGEL, D.B.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Influência do puerpério e da fase pós-puerperal na função hepática de vacas da raça Holandesa criadas no Estado de São Paulo. **Ciênc. Anim. Bras.**, v. 9, n. 1, p. 140-147, 2008.

SOUZA, R. M.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; AYRES, M. C. C.; BIRGEL, E. H. Influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Holandesa e Jersey. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 41. p. 306-312, 2004.

SOUZA, M. F.; LOPES, F. C.; AZEVEDO, E. O. Prevalência de Brucelose Bovina em área de assentamento rural no município de Riachuelo – RN. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4., 1999, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1999. p. 261 – 262

SOUZA, P. M. **Perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, criados no Estado de São Paulo - influência de fatores de variabilidade etários e sexuais.** 1997. 247 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

STÄMPFLI, H. R.; CARLSON, G. P. How to use the routine serum biochemical profile to understand and interpret Acid-Base disorders in the horse. **AAEP PROCEEDINGS**, San Diego, v. 47, p. 257-261, 2001.

TAIRA, T.; FUGINAGA, T.; TAMURA, K.; IZUMI, M.; ITOH, T.; TSUNODA, N.; YAMASHITA, K.; OKUMURA, M.; MIZUNO, S. Isolation and characterization of alpha 1-acid glycoprotein from horses, and its evaluation as an acute-phase reactive protein in horse. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 961-965, 1992.

TADICH, N.; GALLO, C.; ALVARADO, M. Efectos de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos. Valdivia, Chile: **Arch. Med. Vet.**, v. 32, n. 2, p. 171-183, 2000.

TAKIGUCHI, M.; FUGINAGA, T.; NAIKI, M.; MIZUNO, S.; OTOMO, K. Isolation, characterization, and quantitative analysis of C-reactive protein from horses. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v. 51, n. 8, p. 1215-1220, 1990.

TAYLOR, J. A. Leucocyte responses in ruminants. In. FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 391-404.

THOMAS, J. S. Overview of plasma proteins. In. FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 891-898.

THRALL, M. A. **Hematología e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 582 p

THOMPSON, D.J; CAMPABADAL, C.M. **El calcio, fósforo y flúor en la nutrición de los ruminantes**. IN: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO SOBRE INVESTIGACIONES EM NUTRICIÓN MINERAL DE LOS RUMINANTES EN PASTOREO. Gainesville: Departamento de Ciencia Animal, Universidade de Flórida, 1978.

TRUMEL, C.; SCHELCHER, F.; BRAUM, J.P.; GUELFI, J.F. L' électrophorèse des protéines sériques: principes d' interpretation chez le chien, le chat, et le cheval. **Rev. Med. Vet.**, Paris, v. 147, n. 2, p. 123-130, 1996.

VASCONCELLOS, S. Laboratory diagnosis of leptospirosis in animals. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE LEPOSPIRA Y LEPTOSPIROSIS EN LAS AMÉRICAS, 2004, México. **Anais...** v. 1, p. 70-76

WALKER, J. L.; CLARKE, C.R.; LESSLEY, B.A.; HAGUE, C. M. Effect of *Pasteurella haemolytica* on alpga- 1-acid glycoprotein and albumin concentrations in serum and subcutaneous tissue chamber fluid of calves. **Res. Vet. Sci.**, London, v. 56, p. 158-163, 1994.

WEAVER, A.D. Lameness above the foot. In: ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G. **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle.** London: Blacwell, 2004. cap. 31, p. 435-467.

WITTWER, F.; CONTRERAS, P. A. Consideraciones sobre al empleo de los perfiles metabólicos em ganado lechero. **Arch. Med. Vet.**, Valdivia, v. 12, n. 1, p. 180-188, 1980.

YAN, K. T.; ELLIS, W. A.; MACKIE, D. P.; TAYLOR, M. J.; McDOWELL, S. W. J.; MONTGOMERY, J. M. Deselopment of na Elisa to detect antibody to a protective lipopolysaccharide fraction of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo in cattle. **Vet. Microbiol.**, Amsterdam, v. 69, p. 173-187, 1999.

## APÊNDICES

**Tabela 1A.** Médias das concentrações séricas das frações protéicas, com os respectivos pesos moleculares (PM), obtidas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de vacas sadias da raça Nelore criadas na região Centro-Oeste, Estado do Maranhão.

Proteína	Peso molecular (kDa)	Concentração Sérica (mg/dL) e Animal														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
NI	224	3,2	0	3,62	9,93	3,62	42,8	8,49	7,03	2,61	1,99	4,39	2,54	3,71	26,5	6,3
NI	197	21,1	23,7	10,6	0	10,6	0	4,31	20,4	11,5	13,4	8,57	14,5	14,0	0	7,81
IgA	155	252	157	183	155	183	42,7	222	295	204	235	152	160	268	101	256
NI	130	8,08	40,0	10,8	6,99	10,8	28,7	24,6	29,5	17,1	26,0	15,7	20,0	17,5	0	19,9
NI	122	10,6	35,8	16,8	11,9	16,8	35,3	40,2	0	20,2	20,5	0	23,1	17,1	21,2	17,5
Ceruloplasmina	111	36,6	7,29	39,2	44,9	39,2	10,8	25,3	60,8	18,8	12,5	48,4	14,1	19,6	34,3	26,2
NI	101	18,5	1,54	21,3	6,99	21,3	19,8	35,9	47,9	30,5	27,6	35,5	30,0	20,9	6,16	28,2
NI	91	30,7	33,8	30,4	26,9	30,4	2,86	52,0	56,1	37,9	37,5	54,2	55,1	30,0	22,6	22,1
NI	84	21,3	17,4	14,0	0	14,0	0	48,0	82,1	37,4	49,7	19,9	27,0	16,2	20,6	18,2
Transferrina	76	70,1	88,5	50,9	38,5	50,9	142	117	80,8	81,1	136	115	94,4	91,6	172	112
Albumina	61	4.975	4.584	5.206	4.546	5.206	5.053	3.585	4.159	4.785	4.728	4.519	4.682	4.415	4.898	3.962
IgG cadeia pesada	54	1.285	1.307	1.238	1.404	1.238	646	1.335	1.287	1.215	1.495	1.077	785	1.409	1.456	1.198
NI	44	72,2	128	87,3	93,9	87,3	49,7	21,4	44,5	49,4	60,2	39,2	58,4	41,19	109	56,7
Haptoglobina	40	9,94	3,00	7,74	18,7	7,74	77,1	23,5	11,9	14,3	13,0	21,1	9,14	8,99	2,86	18,4
$\alpha_1$ - glicoproteína ácida	38	71,6	13,2	16,9	28,6	16,9	16,0	7,59	8,38	7,44	9,13	8,00	10,5	8,28	3,99	8,08
NI	36	33,2	39,0	36,6	2,54	36,6	53,9	43,3	24,1	19,7	21,9	22,5	22,1	15,7	32,0	26,7
NI	35	6,32	7,45	5,43	57,3	5,43	39,8	20,2	22,3	21,8	23,5	13,2	15,9	9,47	7,28	7,19
NI	33	41,1	60,4	48,6	965	48,6	21,1	10,7	40,4	68,7	46,7	61,2	47,6	63,8	66,8	49,7
IgG cadeia leve	28	995	971	731	431	731	750	637	778	724	828	541	645	869	1.199	620
PM=23000Da	23	405	479	389	33,0	389	412	152	343	468	426	261	446	477	407	325
NI	22	45,0	38,2	20,7	21,5	20,7	17,6	6,56	16,9	12,9	28,1	5,95	17,0	22,0	28,7	20,2
NI	20	19,6	19,4	19,8	35,8	19,8	12,6	10,6	25,2	21,1	21,3	15,6	25,4	15,5	9,36	13,6
NI	19	8,16	3,15	2,71	0	2,71	0	2,25	3,81	3,24	2,82	2,05	1,81	3,7	4,42	2,74
NI	17	44,6	41,5	38,0	0	38,0	46,1	17,4	35,5	36,4	33,6	38,4	2,24	32,8	38,9	25,5

**Tabela 2A.** Médias das concentrações séricas das frações protéicas, com os respectivos pesos moleculares (PM), obtidas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de vacas sadias da raça Girolanda do grupo controle criadas na região centro-oeste, Estado do Maranhão.

Proteína	Peso molecular (kDa)	Concentração sérica (mg/dL) e Animal														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
NI	239	0	0	0	0	0	0	0	3,74	0	0	0	0	0	0	0
NI	224	11,1	0	4,25	4,89	7,98	3,34	4,09	1,66	8,97	7,88	346	8,47	3,59	7,78	91,5
NI	197	16,8	21,9	15,6	6,09	13,8	10,2	10,1	8,22	0	3,26	42,5	10,6	7,46	6,43	16,7
IgA	155	364	139	232	148	255	203	275	217	215	182	84,1	438	198	240	240
NI	130	36,9	17,9	24,9	9,84	23,2	27,2	25,0	25,0	15	29,9	0	27,7	29	11,0	16,9
NI	122	25,7	29,4	0	13,7	22,4	49,3	0	16,5	9,88	7,29	25,1	26,1	19,6	17,9	22,2
Ceruloplasmima	111	26,8	32,2	36,4	44,6	53,7	7,93	33,2	40,5	53,3	51,4	38,9	33,4	15,1	71,9	39,8
NI	101	22,4	7,98	18,6	26,8	14,6	44,4	69,4	8,47	22,2	21,2	0	32,4	29	41,4	25,7
NI	91	24,0	29,5	18,2	32,9	19,3	26,0	32,4	15,6	21,3	46,2	22,2	57,9	27,0	39,3	36,6
NI	84	144	27,4	151	43,0	75,1	82,3	34,7	94,2	13,8	81,5	0	80,4	13,5	44,6	34,6
Transferrina	76	65,7	211	63,5	74,8	78,9	78,6	32,3	44,0	57,4	89,8	49,5	126	64,0	87,2	81,6
Albumina	61	3.926	4.774	4.249	4.533	4.904	1.363	67,1	4.323	3.457	3.934	4.700	4.252	3.810	3.862	4.156
IgG cadeia pesada	54	1.569	1.634	951	992	1.169	90,0	4.664	1.666	1.663	988	1.735	1.687	1.333	1.963	1.680
NI	44	67,5	156	89,2	46,7	99,5	4,43	1.042	113	94,7	32,9	25,6	41,8	71,7	64,4	50,9
Haptoglobina	40	9,64	4,49	1,08	15,4	4,32	8,55	93,6	2,82	7,92	12,0	13,6	25,7	3,03	5	11,8
$\alpha$ 1- glicoproteína ácida	38	22,7	12,1	14,6	21,9	8,14	52,3	9,61	13,9	7,69	10,0	28,0	7,79	6,48	15,5	14,4
NI	36	6,42	35,9	31,2	21,1	47,0	6,53	7,05	28,6	25,9	17,3	47,4	33,2	29,5	21,8	33,0
NI	35	0	3,59	7,1	1,42	11,8	42,9	45,2	5,06	1,21	0	18,4	10,0	2,04	6,83	9,32
NI	33	38,2	65,1	46,0	31,2	33,7	838	3,6	54,3	43,5	152	93,7	48,1	50,8	43,8	59,1
IgG cadeia leve	28	1.056	1.247	1.135	667	1.020	457	49,3	1.111	1.302	539	1.062	956	875	943	959
PM=23000Da	23	473	420	501	273	358	21,4	998	441	425	251	644	489	377	394	476
NI	22	47,7	46,7	53,7	21,5	27,7	0	418	25,3	35,1	0	18,6	19,4	26,7	21,5	21,6
NI	20	23,6	13,9	17,7	15,2	19,0	16,3	62,3	21,7	13,1	10,6	31,7	20,3	20,9	13,7	21,6
NI	19	5,7	2,87	11,4	0	4,16	2,64	2,96	3,40	6,41	15,8	19,6	3,73	4,44	0	6,94
NI	17	44,8	37,1	45,6	34,5	37,6	31,7	28,6	14,5	38,8	26,2	22,4	33,8	22,2	16,5	23,7

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)