

## Perfil hematológico e bioquímico de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental<sup>1</sup>

Deiseane G. Fontes<sup>2\*</sup>, Maria Vivina B. Monteiro<sup>2</sup>, Ediene M. Jorge<sup>2</sup>, Carlos Magno C. Oliveira<sup>3</sup>, Rhuan A. Ritter<sup>3</sup>, José Diomedes Barbosa Neto<sup>3</sup>, Ednaldo da Silva Filho<sup>4</sup> e Frederico O.B. Monteiro<sup>4</sup>

**ABSTRACT.-** Fontes D.G., Monteiro M.V.B., Jorge E.M., Oliveira C.M.C., Ritter R.A., Barbosa J.D., Silva Filho E. & Monteiro F.O.B. 2014. [**Hematologic and biochemical profile of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Eastern Amazonia.**] Perfil hematológico e bioquímico de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(Supl.1):57-63. Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará, Rodovia BR 316, km 61, Bairro Saudade Castanhal, PA 68740-970, Brazil. E-mail: [deisegaia@yahoo.com](mailto:deisegaia@yahoo.com)

Complete blood cell count and biochemical testing are exams routinely used in assessing the health of domestic animals, including buffaloes. In the Amazon region, research on this subject is scarce. Thus, the aim of this study was to establish reference intervals for hematology and blood chemistry of *Bubalus bubalis* raised in eastern Amazon and evaluate the effects of age and sex on biochemical and hematological values. Seventy-three (n=73) Murrah buffaloes were divided into three groups, group 1 (G1, n=22): animals from two to eight months, group 2 (G2, n=23): animals from nine months to two years and group 3 (G3, n=28): animals over two years. Blood counts and biochemical analyzes were performed on automated equipment. The reference intervals were established as recommended by Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Tukey and Kruskal-Wallis tests were used to evaluate the effect of gender and age, with differences considered significant when  $P < 0.05$ . There was influence of age on the values of red blood cells (RBC), packed cell volume (PCV), hemoglobin, leukocytes, lymphocytes, eosinophils, neutrophils, platelets, mean platelet volume (MPV), Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (HCM), Red Blood Cell Distribution Width (RDW) and the proportion of neutrophil: lymphocyte (N:L). The gender affected MCV and the Platelets Distribution Width (PDW), which were higher ( $P < 0.05$ ) in females, while RDW was higher in males. Comparing the biochemical parameters among age groups, it was found that age influenced the activity of the enzymes aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) and the concentrations of creatinine, total protein and direct bilirubin. Creatinine concentrations and direct bilirubin were significantly higher in animals of older age. The gender affected the activity of AST and the concentration of direct bilirubin, which were higher ( $P < 0.05$ ) in males. Hematological and biochemical values set in this study can be used as a reference for buffaloes bred in eastern Amazon.

INDEX TERMS: *Bubalus bubalis*, buffaloes, hematological profile, biochemical profile, clinical pathology, Amazon region, laboratory testing.

<sup>1</sup> Recebido em 17 de junho de 2014.

Aceito para publicação em 13 de dezembro de 2014.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia (PPGSA-AM), Universidade Federal do Pará (UFPA), Rodovia BR-316 Km 61, Bairro Saudade, Castanhal, PA 68740-970, Brasil. \*Autor para correspondência: [deisegaia@yahoo.com](mailto:deisegaia@yahoo.com)

<sup>3</sup> Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, UFPA, Rodovia BR-316 Km 61, Bairro Saudade, Castanhal, PA 68740-970.

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia (PPGSPAA), Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Pres. Tancredo Neves 2501, Bairro Terra Firme, Belém, PA 66077-901, Brasil.

**RESUMO.** - O hemograma e as dosagens bioquímicas são exames rotineiramente utilizados na avaliação da saúde dos animais domésticos, incluindo os búfalos. Na região Amazônica pesquisas nessa temática ainda são escassas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estabelecer intervalos de referência para hematologia e bioquímica sanguínea de *Bubalus bubalis* criados na Amazônia Oriental e avaliar os efeitos da idade e do sexo sobre os valores bioquímicos e hematológicos obtidos. Foram utilizados 73 animais da raça Murrah, divididos em três grupos, o grupo 1 (G1, n=22) com animais de dois a oito meses, grupo 2 (G2, n=23) com animais de nove a dois anos e o grupo 3 (G3, n=28) com animais com mais de dois anos. Os hemogramas e as análises bioquímicas foram realizados em equipamentos automatizados. Os intervalos de referência foram estabelecidos conforme as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Para avaliar o efeito do sexo e da idade foram utilizados os testes de Tukey, e Kruskal-Wallis, sendo as diferenças consideradas significativas quando  $P < 0,05$ . Houve influência da idade sobre os valores de hemácias (He), hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb), leucócitos, linfócitos, eosinófilos, neutrófilos, plaquetas, volume plaquetário médio (VPM), índices hematimétricos (Volume Globular Média - VGM, Hemoglobina Corpuscular Média - HCM, e Coeficiente de variação eritrocitária - RDW) e relação neutrófilo:linfócito (N:L). O sexo influenciou o valor do VGM e do índice de amplitude de distribuição do tamanho da plaqueta (PDW) que foram maiores ( $P < 0,05$ ) nas fêmeas, enquanto o RDW foi maior nos machos. Na comparação dos parâmetros bioquímicos entre as faixas etárias, verificou-se que a idade influenciou a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA) e as concentrações de creatinina, proteínas totais e bilirrubina direta. As concentrações de creatinina e bilirrubina direta foram significativamente maiores nos animais da maior faixa etária. O sexo influenciou a atividade da AST e a concentração de bilirrubina direta, que foram maiores ( $P < 0,05$ ) nos machos. Os valores hematológicos e bioquímicos estabelecidos podem ser utilizados como referência para búfalos criados na Amazônia Oriental.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** *Bubalus bubalis*, búfalos, perfil hematológico, perfil bioquímico, patologia clínica, Região Amazônica, exames laboratoriais.

## INTRODUÇÃO

No início do século XX, os búfalos chegaram ao Brasil e foram inicialmente introduzidos na Ilha do Marajó, estado do Pará, onde se adaptaram bem à região, passando a gerar interesse econômico, o que motivou mais importações e sua posterior distribuição em todo território brasileiro (Damasceno et al. 2010).

O búfalo é um animal rústico e versátil, possuindo aptidão para produção de leite, carne e trabalho. Apesar da semelhança fenotípica e morfológica com os bovinos, e de acreditar-se que estejam sujeitos às mesmas doenças, estudos genéticos comprovam que os búfalos estão mais próximos dos ovinos e caprinos do que dos próprios bovinos

(Mattapallil & Ali 1999). Sendo assim, há crescente necessidade de se conhecer alterações clínicas e laboratoriais específicas da espécie bubalina, respeitando as peculiaridades fisiológicas próprias que são inerentes a estes animais (Damasceno et al. 2010).

O hemograma e as dosagens bioquímicas são exames laboratoriais rotineiramente utilizados na avaliação da saúde dos animais domésticos, incluindo os búfalos. Para a correta identificação de anormalidades nesses exames é fundamental comparar os resultados obtidos com os intervalos de referência. Os intervalos de referência são determinados a partir de animais saudáveis, utilizando metodologias padronizadas, cálculos estatísticos e representam uma estimativa dentro da qual 95% dos indivíduos clinicamente normais devem ser encontrados (George et al. 2010).

Na espécie bubalina grande parte dos trabalhos com hematologia e bioquímica são realizados em animais com doenças parasitárias (Edith et al. 2010), metabólicas (Akhtar et al. 2007) e infecciosas (Javed et al. 2006). Os trabalhos para estabelecer intervalos de referência ainda são escassos (Pöpisil et al. 1985, Gomes et al. 2010a, Gomes et al. 2010b), especialmente no bioma Amazônico, havendo a necessidade da criação de intervalos de referência próprios ou validação dos já disponíveis na literatura.

Nesse contexto, tendo em vista a importância da bubalinocultura para o Brasil, especialmente para a região amazônica, esse trabalho teve como objetivos estabelecer intervalos de referência para hematologia e bioquímica sanguínea de búfalos criados na Amazônia Oriental e avaliar a influência da idade e do sexo sobre os parâmetros obtidos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi submetido e aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação da Universidade Federal do Pará (CEPAE/UFPA, protocolo nº 107-13).

Os animais foram selecionados pelo método semiológico de inspeção, através da observação da superfície externa do corpo do animal, comportamento em relação ao rebanho, postura em estação e em movimento. Foram excluídos animais letárgicos, em estágio final de gestação, em estado nutricional ruim, e/ou apresentando lesões visíveis externamente (Feitosa 2008).

Foram utilizados 73 animais da raça Murrah, divididos em três grupos experimentais, o grupo 1 (G1) com animais até oito meses (n=22, com 13 machos e 9 fêmeas), grupo 2 (G2) com animais de nove meses a dois anos (n=23, com 10 machos e 13 fêmeas) e o grupo 3 (G3) com animais com mais de dois anos (n=28, com 5 machos e 23 fêmeas). Todos os animais eram criados em regime extensivo em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com água e sal mineral fornecidos *ad libitum*.

As amostras de sangue (5 ml) para o hemograma foram coletadas por meio de venopunção da veia jugular utilizando tubos vacutainer® contendo o anticoagulante ácido etilendiaminotetracético (EDTA). Após as coletas, todas as amostras foram refrigeradas e imediatamente remetidas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFPA.

Para as determinações bioquímicas o sangue (5ml) foi coletado em tubos a vácuo sem anticoagulante, deixado à temperatura ambiente para a retração do coágulo e centrifugado a 2.000 G durante 10 minutos. Os soros obtidos foram congelados a -20°C até a realização das análises. Não foram processadas amostras hemolisadas ou ictericas.

As análises hematológicas foram realizadas utilizando o contador automático BC-2800Vet® (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics®, Germany) calibrado para a espécie bubalina. O BC-2800Vet® realiza a contagem de hemácias (He), leucócitos e plaquetas por impedância elétrica, determina a hemoglobina (Hb) pelo método da cianometahemoglobina, calcula o hematócrito (Ht), os índices hematimétricos volume globular médio-VGM, concentração de hemoglobina globular média (CHGM), hemoglobina globular média (HGM), coeficiente de variação eritrocitária (RDW) e os índices derivados das plaquetas (volume plaquetário médio – MPV), índice de amplitude de distribuição do tamanho da plaqueta (PDW) e plaquetócrito (PCT). A contagem diferencial de leucócitos foi realizada contando 100 células em esfregaços sanguíneos corados pelo panótico rápido (NEWPROV Produtos para Laboratório Ltda, Pinhais/PR). Foi calculada a relação entre neutrófilo: linfócito (N:L).

As determinações bioquímicas foram realizadas utilizando Kits comerciais (Doles Reag. Equip. para Laboratórios Ltda®), usando o analisador bioquímico automatizado BS-120 (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics®, Germany). Foram realizadas as dosagens de ureia, creatinina, bilirrubina e determinação da atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT). A determinação das proteínas totais foi realizada por refratometria.

Foram utilizadas as recomendações do *CLSI* para estabelecer os valores de referência, conforme descrito por Ferreira &

Andriolo (2008). Os resultados de cada variável hematológica e bioquímica foram testados para distribuição normal pelo Método de Kolmogorov e Smirnov. Os dados sem distribuição gaussiana foram novamente testados para normalidade após transformação em raiz quadrada. Para os dados com distribuição gaussiana os valores de referência foram considerados como média ±2DP. Para os dados sem distribuição gaussiana, mesmo após transformação, os percentis 2,5 e 97,5 foram utilizados como intervalos de referência.

Para avaliar o efeito do sexo e da idade sobre as variáveis bioquímicas e hematológicas foi utilizado o teste de Tukey, para os dados com distribuição normal e Kruskal-Wallis quando os dados não foram normalmente distribuídos. Foi utilizado o programa BioEstat 5.0 (Ayres et al. 2007), os resultados foram expressos como média ± desvio padrão e as diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Os valores de referência para os constituintes hematológicos e bioquímicos e o tipo de distribuição dos dados estão demonstrados no Quadro 1. Todos os parâmetros bioquímicos, exceto a FA, apresentaram distribuição gaussiana (paramétrica). Dos parâmetros hematológicos, o CHGM, os eosinófilos, os monócitos, o RDW e o PDW não apresenta-

**Quadro 1. Intervalos de referência e tipo de distribuição dos dados para hematologia e bioquímica de búfalos (*Bubalus bubalis*) (n=73) criados na Amazônia Oriental**

Parâmetros	Unidade	Distribuição	Média±DP	Intervalo de referência
Hemácias	$\times 10^6 / \mu\text{l}$	Gaussiana	7,60±1,8	4,7 - 11,8
Hematócrito	%	Gaussiana	35,11±5,5	25 - 45
Hemoglobina	g/dL	Gaussiana	11,13±1,8	8 - 16
VGM	fL	Gaussiana	47,0±7,2	37 - 66
CHGM	g/dl	Gaussiana após transformação em raiz quadrada	31,80±2,6	27 - 36
RDW	%	Gaussiana após transformação em raiz quadrada	17,42±5,5	14 - 23
HGM	Pg	Gaussiana	14,80±1,9	11 - 19
Plaquetas	$\times 10^3 / \mu\text{l}$	Gaussiana	327,83±139,8	101 - 775
PCT	%	Gaussiana	0,22±0,1	0,0 - 0,40
PDW	%	Gaussiana após transformação em raiz quadrada	16,10±1,6	14 - 23
Leucócitos	$\times 10^3 / \mu\text{l}$	Gaussiana	11,80±4,26	5,4 - 15,4
N.segmentados	$\times 10^3 / \mu\text{l}$	Gaussiana	3,42 ±1,5	1,1- 7,1
Eosinófilos	$\times 10^3 / \mu\text{l}$	Gaussiana após transformação em raiz quadrada	0,29 ± 0,31	0,2 - 1,2
Linfócitos	$\times 10^3 / \mu\text{l}$	Gaussiana	8,10±3,7	8,1 - 9,2
Monócitos	$\times 10^3 / \mu\text{l}$	Não Gaussiana	0,30±0,9	0,0 - 0,98
N:L	-	Gaussiana	0,40±0,3	0,0 - 0,90
AST	U/L	Gaussiana	174,80±70,6	174,8 - 386,5
GGT	U/L	Gaussiana	22,90±9,0	22,9 - 40,97
FA	U/L	Gaussiana após transformação em raiz quadrada	264,80±132,7	264,0 - 317,7
Uréia	mg/dL	Gaussiana	28,70±16,4	28,7 - 61,56
Creatinina	mg/dL	Gaussiana	1,30±0,3	1,3 - 2,39
Bilirrubina total	mg/dL	Gaussiana	0,40±0,4	0,0 - 0,95
Bilirrubina direta	mg/dL	Gaussiana	0,37±0,3	0,0 - 0,82
Proteínas totais	mg/dL	Gaussiana	8,60±0,4	8,6 - 11,0

VGM = Volume globular médio, CHGM = Concentração de hemoglobina globular média, HGM (Hemoglobina Globular Média), RDW = Coeficiente de variação eritrocitária, PDW = Índice de amplitude de distribuição do tamanho da plaqueta, VPM = Volume plaquetário médio, PCT = Plaquetócrito, N:L = Relação neutrófilo:linfócito, AST = Aspartato aminotransferase, FA = Fosfatase alcalina, GGT = Gama glutamiltransferase.

ram distribuição gaussiana. Entretanto, após transformação em raiz quadrada, todos os resultados, exceto os monócitos, entraram na distribuição de Gauss.

No Quadro 2 estão descritos os resultados das análises hematológicas relacionadas ao fator etário. Observou-se influência da idade nos valores de He, Ht, Hb, leucócitos, linfócitos, eosinófilos, neutrófilos, plaquetas, VPM, índices hematimétricos (VGM, HCM, e RDW) e relação N:L. A contagem global de hemácias, o Ht, a Hb, as plaquetas, os leucócitos, os neutrófilos e os linfócitos foram maiores ( $p < 0,05$ ) nos animais da menor faixa etária (G1). O número de eosinófilos foi significativamente maior nos animais do G2 e G3. Os índices hematimétricos VGM e HGM foram significativamente menores nos animais do G1. Em contrapartida, o valor de RDW diminuiu ( $p < 0,05$ ) gradativamente, com o evoluir da idade.

Houve influência do sexo sobre o valor do VGM. As fêmeas ( $49,29 \pm 2,5$  fl) apresentaram maior valor que os machos ( $43,28 \pm 1,2$  fl). O PDW foi maior nas fêmeas ( $16,43 \pm 1,2$  %), em relação aos machos ( $15,80 \pm 1,3$  %). Já o valor do RDW foi maior ( $P < 0,05$ ) nos machos ( $17,70 \pm 2,1$  %) que nas fêmeas ( $17,35 \pm 1,4$  %).

Na comparação dos parâmetros bioquímicos entre as faixas etárias (Quadro 3), verificou-se que a idade influenciou a atividade das enzimas AST e FA e as concentrações de creatinina, proteínas totais e bilirrubina direta. A atividade da enzima AST e as concentrações de creatinina e bilirrubina direta foram significativamente maiores nos animais da maior faixa etária (G3), enquanto a atividade de FA foi maior ( $p < 0,05$ ) nos animais das menores faixas etárias (G1 e G2).

O sexo influenciou a atividade da AST e a concentração de bilirrubina direta. Os machos ( $187,57 \pm 23,1$  U/L) apre-

**Quadro 2. Média  $\pm$  Desvio Padrão dos valores hematológicos de búfalos (*Bubalus bubalis*) de diferentes faixas etárias criados na Amazônia Oriental**

Parâmetros	G1 (n=22)	G2 (n=23)	G3 (n=28)
He ( $\times 10^6$ / $\mu$ L)	9,80 <sup>A</sup> $\pm$ 1,22	7,55 <sup>B</sup> $\pm$ 1,02	6,53 <sup>B</sup> $\pm$ 0,81
Ht (%)	39,62 <sup>A</sup> $\pm$ 4,01	34,00 <sup>B</sup> $\pm$ 5,90	33,10 <sup>B</sup> $\pm$ 4,02
Hb (g/dL)	12,81 <sup>A</sup> $\pm$ 1,53	10,70 <sup>B</sup> $\pm$ 1,30	10,80 <sup>B</sup> $\pm$ 1,41
HGM (pg)	12,91 <sup>C</sup> $\pm$ 1,03	14,31 <sup>C</sup> $\pm$ 0,72	16,55 <sup>A</sup> $\pm$ 1,03
VGM (fl.)	40,30 <sup>C</sup> $\pm$ 2,22	45,32 <sup>B</sup> $\pm$ 3,01	51,42 <sup>A</sup> $\pm$ 6,12
CHGM (g/dL)	32,53 $\pm$ 2,51	31,91 $\pm$ 2,20	32,50 $\pm$ 2,80
RDW (%)	18,20 <sup>A</sup> $\pm$ 2,10	16,60 <sup>B</sup> $\pm$ 0,90	15,91 <sup>B</sup> $\pm$ 0,93
PDW (%)	15,30 $\pm$ 0,40	15,94 $\pm$ 0,42	17,02 $\pm$ 2,24
Plaquetas ( $10^3$ / $\mu$ L)	385,31 <sup>A</sup> $\pm$ 131,52	296,30 <sup>B</sup> $\pm$ 159,60	269,70 <sup>B</sup> $\pm$ 113,30
PCT (%)	0,23 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,03
VPM (fl.)	6,01 <sup>B</sup> $\pm$ 0,40	6,93 <sup>A</sup> $\pm$ 0,53	6,80 <sup>A</sup> $\pm$ 0,80
Leucócitos ( $\times 10^3$ / $\mu$ L)	15,95 <sup>A</sup> $\pm$ 3,70	12,41 <sup>B</sup> $\pm$ 2,70	9,20 <sup>C</sup> $\pm$ 2,71
Neutrófilos ( $\times 10^3$ / $\mu$ L)	4,18 <sup>A</sup> $\pm$ 1,80	2,76 <sup>B</sup> $\pm$ 1,31	3,54 <sup>A</sup> $\pm$ 1,02
Eosinófilos ( $\times 10^3$ / $\mu$ L)	0,15 <sup>B</sup> $\pm$ 0,10	0,32 <sup>A</sup> $\pm$ 0,30	0,38 <sup>A</sup> $\pm$ 0,20
Linfócitos ( $\times 10^3$ / $\mu$ L)	11,72 <sup>A</sup> $\pm$ 2,74	9,22 <sup>B</sup> $\pm$ 2,92	5,21 <sup>C</sup> $\pm$ 2,10
Monócitos ( $\times 10^3$ / $\mu$ L)	0,13 $\pm$ 0,11	0,08 $\pm$ 0,20	0,22 $\pm$ 0,32
N:L	0,34 <sup>B</sup> $\pm$ 0,12	0,32 <sup>B</sup> $\pm$ 0,10	0,73 <sup>A</sup> $\pm$ 0,40

He = Hemácias, Ht = Hematócrito, Hb = Hemoglobina, HGM = Hemoglobina globular média, VGM = Volume globular médio, CHGM = Concentração de hemoglobina globular média, RDW = Coeficiente de variação eritrocitária, PDW = Índice de amplitude de distribuição do tamanho da plaqueta, VPM = Volume plaquetário médio, PCT = Plaquetócrito, N:L = Relação neutrófilo:linfócito. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as colunas ( $p < 0,05$ ).

**Quadro 3. Parâmetros bioquímicos (Média  $\pm$  DP) nas diferentes faixas etárias de búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na Amazônia Oriental**

Parâmetros	G1 (n=22)	G2 (n=23)	G3 (n=28)
AST (U/L)	147,81 <sup>B</sup> $\pm$ 43,81	164,4 <sup>B</sup> $\pm$ 38,01	234,4 <sup>A</sup> $\pm$ 92,11
FA (U/L)	307,43 <sup>A</sup> $\pm$ 124,22	356,0 <sup>A</sup> $\pm$ 153,42	179,7 <sup>C</sup> $\pm$ 62,32
GGT (U/L)	21,22 $\pm$ 12,73	22,3 $\pm$ 6,23	26,0 $\pm$ 14,93
Proteínas totais (mg/dl)	8,05 <sup>B</sup> $\pm$ 0,51	8,3 <sup>B</sup> $\pm$ 0,90	9,2 <sup>A</sup> $\pm$ 1,74
Uréia (mg/dl)	21,74 $\pm$ 14,22	29,9 $\pm$ 17,02	29,6 $\pm$ 7,15
Creatinina (mg/dl)	1,13 <sup>B</sup> $\pm$ 0,23	1,3 <sup>B</sup> $\pm$ 0,22	1,5 <sup>A</sup> $\pm$ 0,42
Bilirrubina direta (mg/dl)	0,22 <sup>B</sup> $\pm$ 0,11	0,2 <sup>B</sup> $\pm$ 0,11	0,5 <sup>A</sup> $\pm$ 0,10
Bilirrubina total (mg/dl)	0,53 $\pm$ 0,34	0,42 $\pm$ 0,21	0,52 $\pm$ 0,22

AST = Aspartato aminotransferase, FA = Fosfatase alcalina, GGT = Gama glutamiltransferase. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as colunas ( $p < 0,05$ ).

sentaram maior ( $p < 0,05$ ) atividade de AST que as fêmeas ( $167,44 \pm 25,2$  U/L). A bilirrubina direta também foi significativamente maior nos machos ( $0,32 \pm 0,1$  mg/dl) quando comparado às fêmeas ( $0,30 \pm 0,1$  mg/dl).

## DISCUSSÃO

No presente estudo a determinação dos intervalos de referência para hematologia e bioquímica sanguínea de *B. bubalis* foi executada segundo a metodologia proposta pelo CLSI que recomenda a utilização de testes paramétricos e não paramétricos dependendo da distribuição dos dados (Ferreira e Andriolo 2008). Dentre os 24 parâmetros analisados, quatro apresentaram distribuição não paramétrica, sendo que após transformação em raiz quadrada, apenas um parâmetro continuou não normal (monócitos). Resultados semelhantes foram obtidos por George et al. (2010) para intervalos de referência de bovinos.

Quando os parâmetros apresentam distribuição normal o número de amostras recomendado é de no mínimo 40 (Thrall 2007, Ferreira & Andriolo 2008, George et al. 2010). O tamanho da população utilizada neste trabalho ( $n=73$ ) foi superior ao recomendado para amostras com distribuição paramétrica e semelhante ao número de amostras utilizado por Chandra et al. (2008), que utilizou 77 animais para estabelecer intervalos de referência hematológicos para bubalinos criados na Índia e George et al. (2010) que utilizaram um total de 58 animais para estabelecer intervalos de referência para espécie bovina.

Em relação aos valores hematológicos, observou-se que os animais de menor idade (G1) apresentaram maiores valores de He, Ht e Hb e plaquetas, o que pode ser explicado pela maior atividade hematopoiética em animais mais jovens, pois a fase de crescimento rápido está associada à expansão do volume sanguíneo, com grande demanda por eritrócitos (Freitas et al. 2012). Este resultado, possivelmente, também está relacionado com a queda na produção hormonal causada pelo envelhecimento, com a diminuição nos níveis de hormônios da tireóide (Jain 1993). Resultados similares foram observados em bovinos (Galindo et al. 2009). Alguns trabalhos realizados com bubalinos, à semelhança do presente estudo, verificaram que os valores de He, Ht e Hb são maiores em animais mais jovens, havendo significativa diminuição com o avançar da idade (Silva et al. 1992, Ciaramella et al. 2005, Gomes et al. 2010b, Fran-

ça et al. 2011). O trabalho de Gomes et al. (2010b), diferiu apenas na variação de Hb, que foi menor nos animais de 12 meses, e aumentou nos animais de 24 meses. Já Fernandez-Hernandez et al. (2005), observaram que o valor de Hb foi menor nos animais de três e quatro anos em relação aos animais de cinco a seis anos. Ferrer et al. (2000) observaram diminuição no Ht, He e Hb em bezerros de 0 a 8 dias de idade, relacionando este resultado à má nutrição das mães dos animais avaliados.

Dentre os novos índices hematológicos, o RDW é o que mais vem sendo utilizado. Esse índice indica o grau de anisocitose dos eritrócitos, é expresso em percentual e sua utilização vem sendo empregada na diferenciação de vários tipos de anemia, como nas anemias regenerativas em que ocorre o aumento no número de reticulócitos, levando a elevação desse índice (Grotto 2009). No presente estudo a idade influenciou os valores do RDW, sendo esse índice maior ( $p < 0,05$ ) nos animais mais jovens (G1), demonstrando maior variação de tamanho das hemácias, sugerindo uma maior atividade medular eritrocitária.

O PDW é um índice similar ao RDW e indica anisocitose plaquetária, um PDW elevado sugere aumento da heterogeneidade do volume plaquetário (Comar & Silva 2009). O sexo teve influência sobre os resultados de RDW e PDW, demonstrando variação no tamanho de hemácias e plaquetas entre os sexos. Entretanto esses resultados, provavelmente, não tem importância clínica.

Em relação às plaquetas, Iglesia et al. (1999) encontraram resultados divergentes aos do presente trabalho, havendo aumento nos búfalos do grupo de idade mais avançada, estes autores argumentam que o aumento no número de plaquetas pode ser explicado pela contração esplênica devido ao estresse no momento da coleta. Além do efeito da idade, no presente estudo, as plaquetas também foram influenciadas pelo sexo, havendo um número maior deste parâmetro em fêmeas, porém esse achado provavelmente não tem relevância clínica.

O VGM e o VPM, índices relacionados ao tamanho celular das hemácias e plaquetas, respectivamente, apresentaram menores valores nos animais mais jovens. Outros autores (Silva et al. 1992, Gomes et al. 2010b) encontraram resultados semelhantes. Os menores tamanhos encontrados para hemácias e plaquetas ocorreram, possivelmente, para compensar o maior número dessas células, pois o volume celular é inversamente proporcional ao número de células (Jain 1993).

O HGM é o índice que informa a concentração de hemoglobina dentro dos eritrócitos. No presente trabalho o menor valor de HGM foi verificado no grupo etário mais jovem (G1). Os menores valores encontrados no G1 foram, provavelmente, devido ao menor volume dos eritrócitos que, consequentemente, apresentam menor conteúdo hemoglobínico (Jain 1993).

A contagem global de leucócitos encontrada no presente trabalho, assemelha-se com os resultados obtidos por outros autores (Iglesia et al. 1999, Ciaramella et al. 2005, França et al. 2011) que observaram um número significativamente maior deste tipo celular nos animais mais de menor faixa etária. Esses autores atribuem o aumento dos leu-

cócitos a maior atividade hematopoiética que ocorre nos animais mais jovens. Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos com a espécie bovina (Costa et al. 2000, Birgel Júnior et al. 2001, Borges et al. 2011).

O número de eosinófilos foi superior nos animais das maiores faixas etárias (G2 e G3). O aumento dos eosinófilos com a idade ocorreu, provavelmente, devido a maior exposição dos animais adultos aos parasitas gastrintestinais (Jain 1993). A influência da idade de bubalinos sobre o número de eosinófilos também foi observada por outros autores (Ciaramella et al. 2005, França et al. 2011).

A relação N:L foi menor que 1 em todas as faixas etárias, demonstrando predomínio de linfócitos. Lodonõ et al. (2012) também verificaram a predominância dos linfócitos em todas as faixas etárias dos bubalinos estudados. Entretanto, Ferrer et al. (2000) encontraram a predominância dos neutrófilos sobre linfócitos em búfalos de 0 a 8 dias, havendo inversão desta proporção ao avançar da idade. Resultados semelhantes foram obtidos para bovinos (Jones & Allison 2007).

Alguns parâmetros bioquímicos sofreram influência da idade e do sexo dos animais. A atividade da enzima AST, aumentou nos animais mais velhos e nos machos, semelhantemente ao observado para bovinos (Gregory et al. 1999, Borges et al. 2011) e bubalinos (Gomes et al. 2010a). A AST é uma enzima utilizada como indicador de lesão hepática e/ou muscular, estando presente em grande quantidade nestes tecidos (Thrall 2007). É provável que o aumento da atividade desta enzima nos machos e animais com mais de dois anos (G3) esteja relacionado à maior massa muscular apresentada nestes grupos.

Não foram encontradas diferenças significativas na atividade sérica da GGT entre os diferentes grupos etários estudados. Alguns autores encontraram aumento da atividade da GGT em bovinos (Borges et al. 2011, Pires Júnior et al. 2013) e bubalinos (Gomes et al. 2010a) jovens, principalmente em animais recém nascidos, atribuindo o aumento da atividade dessa enzima à ingestão de colostro. No presente trabalho foram incluídos animais a partir de 2 meses de idade, não havendo recém nascidos nos grupos estudados, o que pode explicar o fato da atividade de GGT não apresentar maior atividade nos animais mais jovens (G1).

A atividade da FA apresentou valores mais elevados nos grupos etários G1 e G2, havendo uma significativa redução nos animais mais velhos (G3). Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos realizados com bovinos (Borges et al. 2011), ovinos (Madureira et al. 2013), cães (Rosset et al. 2012), e primatas não-humanos (Takeshita et al. 2011). Fisiologicamente estes resultados relacionam-se com o fato da FA ser considerada um marcador bioquímico do metabolismo ósseo, ocorrendo aumento na atividade desta enzima em todas as espécies quando há uma maior atividade osteoblástica, o que explica o seu valor mais elevado em animais em fase de crescimento (Fernandez & Kidney 2007).

A concentração de proteínas totais foi influenciada pela faixa etária, sendo menor nos animais mais jovens (G1 e G2). Resultados semelhantes foram encontrados por

Lodonõ et al. (2012), e Gomes et al. (2010a) para espécie bubalina. Apesar de os animais recém-nascidos possuírem um alto valor de imunoglobulinas adquiridas através do colostro, o que proporciona o aumento no valor das proteínas totais, com o tempo os anticorpos maternos declinam e o organismo do animal terá que produzir suas próprias imunoglobulinas (Barini 2007). No presente estudo, o grupo de animais mais jovens (G1 e G2) não incluiu animais recém-nascidos, desta forma o menor valor de proteínas totais nestes grupos etários, provavelmente, relaciona-se à fase de desenvolvimento do sistema imunológico que ainda está ocorrendo nos animais avaliados.

A concentração de creatinina foi influenciada pela faixa etária dos animais, tendo aumento significativo no G3. Este resultado parece estar relacionado à maior massa muscular dos adultos, sendo a creatinina um produto oriundo da creatina encontrada nos tecidos musculares. Diferentemente do resultado do presente estudo, Benesi et al. (2005) e Gregory et al. (2004), encontraram valores mais elevados de creatinina em bovinos mais jovens.

## CONCLUSÕES

Foram estabelecidos valores de referência para os parâmetros hematológicos e bioquímicos de búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na Amazônia Oriental, incluindo os novos índices hematimétricos gerados por aparelhos automatizados como RDW, PDW, PCT e VPM.

Alguns parâmetros bioquímicos e hematológicos foram influenciados pelo sexo e idade dos animais. Porém, não foi considerado necessário estabelecer intervalos específicos para faixa etária ou sexo, pois as diferenças observadas estão dentro das faixas de variação determinadas para a espécie bubalina e, possivelmente, são decorrentes de variações fisiológicas. Entretanto, salienta-se que essas variações fisiológicas devem ser consideradas pelo clínico na interpretação dos hemogramas e perfis bioquímicos de búfalos.

**Agradecimentos-** Aos estagiários e ao técnico Antônio José Nogueira Leão do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Pará, pelo apoio na realização das análises hematológicas e bioquímicas. A Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PROPESP/UFPA) e a Fundação de Amparo e Desenvolvimento da Pesquisa (FADESP) pelo apoio na realização desse trabalho.

## REFERÊNCIAS

Ayres M., Ayres Jr M., Ayres J.L. & Santos A.A.S. 2007. Bioestat 5.0. Aplicações estatísticas nas áreas de Ciências Bio-Médicas. Sociedade Civil Mamirauá, Belém. 364p.

Barini A.C. 2007. Bioquímica sérica de bovinos (*Bos taurus*) sadios da raça Curraleiro de diferentes idades. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 40p.

Benesi F.J., Coelho C.S., Leal M.L.R., Mirandola R.M.S. & Lisbôa J.A.N. 2005. Parâmetros bioquímicos para avaliação da função renal e do equilíbrio hidroeletrólítico em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 42:291-298.

Birgel Júnior E.H., D'Angelino J.L., Benesi F.J. & Birgel E.H. 2001. Valores de referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 38:136-141.

Borges A.C., Juliano R.S., Barini A.C., Lobo J.R., Abreu U.G.P., Sereno J.R.B. & Fioravanti M.C.S. 2011. Enzimas séricas e parâmetros bioquímicos de

bovinos (*Bos taurus*) sadios da raça Pantaneira. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Embrapa Pantanal, Corumbá.

Chandra K.N., Prasad Y.G.N.Y., Reddy C.N., Bhaskar V., Pandiyan G.D.V. & Muralinath E. 2008. Haematology of graded Murrah buffaloes in the coastal region of Andhra Pradesh (India). Buffalo Bulletin 27:236-239.

Ciaramella P., Corona M., Consalvo R., Ambrosio F. & Persechino A. 2005. Haematological profile on non-lactating Mediterranean buffaloes (*Bubalus bubalis*) ranging in age from 24 months to 14 years. Res. Vet. Sci. 79:77-80.

Comar S.R. & Silva P.H. 2009. Determinação laboratorial e aplicação clínica dos parâmetros de volume plaquetário. Revta Bras. Análises Clínicas 41:257-265.

Costa J.N., Benesi F.J., Birgel E.H., D'Angelino J.L., Ayres M.C.C. & Barros Filho I.R. 2000. Fatores etários no leucograma de fêmeas zebuínas sadias da raça nelore (*Bos indicus*). Ciência Rural 30:399-403.

Feitosa F.L.F. 2008. Semiologia Veterinária, A arte do Diagnóstico: cães, gatos, equinos, ruminantes e silvestres. 2ª ed. Roca, São Paulo. 735p.

Fernandez N.J. & Kidney B.A. 2007. Alkaline phosphatase: beyond the liver. Vet. Clin. Pathol. 36:223-233.

Fernandez-Hernandez A., Romero O., Montiel N., Nava-Trujillo H. & Cahua N. 2005. Determinación de valores de referencia hematológicos en búfalos (*Bubalus bubalis*) parto y postparto en una unidad de producción en el sur del lago de Maracaibo, Venezuela. Revta Cient. FCV-LUZ 15:119-124.

Ferreira C.E.S.F. & Andriolo A. 2008. Intervalo de referencia no laboratório clínico. J. Bras. Patol. Méd. Lab. 44:11-16.

Ferrer J.M., Árraga A.C.M. & Barboza M. 2000. Caracterización hematológica da espécie *Bubalus bubalis* por sexo y edad. Revta Cient. FCV-LUZ 10:508-504.

França R.T., Lopes S.T.D., Martins D.B., Costa M.M., Leal M.L.R., Mazzanti C.M., Schuh R.A. & Dornelles G.L. 2011. Valores hematológicos de búfalos em diferentes faixas etárias criados na região central do Rio Grande do Sul. Revta Bras. Ciênc. Vet. 18:51-54.

Freitas M.L., Pinheiro D.M.L., Ginani F., Barreto M.P.V. & Barboza C.A.G. 2012. Influência do envelhecimento no rendimento *in vitro* de células-tronco mesenquimais da medula óssea de camundongos. J. Health Sci. Inst. 30:103-103.

Galindo R.C.G., Ferreira A.F., Mendes E.I., Santos S.B., Andrade R.L.F., Batista S.E., Lima S.K.D. & Rêgo E.W. 2009. Eritrograma de bovinos da raça holandesa criados na mesorregião metropolitana do Recife: influência dos fatores sexual e etário. Revta Med. Vet. 3:1-6.

George J.W., Snipes J. & Lane V.M. 2010. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. Vet. Clin. Pathol. 39:138-148.

Gomes V., Madureira K.M., Blagitz M.G., Galdino J., Vantim G. & Benesi F.J. 2010a. Valores de referência e influência do etário sobre os parâmetros bioquímicos utilizados para avaliação da função hepática de bubalinos hígdios da raça Murrah. Ars Vet. 26:128-131.

Gomes V., Moura J.A., Madureira M., Baptistella F., Kitamura S.S., Lagitz M.G. & Benesi F.J. 2010b. Valores de referencia e influencia da idade no eritrograma de bubalinos da raça Murrah. Pesq. Vet. Bras. 30:301-304.

Gregory L., Birgel Junior E.H., Mirandola R.M.S., Araújo W.P. & Birgel E.H. 1999. Valores de referência da atividade enzimática da aspartato aminotransferase e da gama glutamiltransferase em bovinos da raça Jersey. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da Leucose dos bovinos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 51:515-22.

Gregory L., Birgel Junior E.H., D'Angelino J.L., Benesi F.J., Araújo W.P. & Birgel E.H. 2004. 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. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 71:339-345.

Grotto H.Z.W. 2009. O hemograma: a importância para a interpretação da biópsia. Revta Bras. Hematol. Hemoterap. 31:178-182.

Iglesia L.M.R., Azuaje K.K., Sanchez F. & Ramirez A.D. 1990. Observaciones hematológicas en búfalos de água (*Bubalus bubalis*) aparentemente sanos en el Occidente de Venezuela. Revta Cient. FCV-LUZ 9:524-531.

- Jain N.C. 1993. Essentials of Veterinary Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia. 1344p.
- Jones M.L. & Allison R.W. 2007. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. Vet. Clin. Food Anim. 23:427-442.
- Londoño C., Sánchez E.N. & Sanmiguel G.A.P. 2012. Parâmetros fisiológicos y valores hematológicos normales en búfalos (*Bubalus bubalis*) del Magdalena Medio Colombiano. Revta Med. Vet. 23:51-64.
- Madureira K.M., Gomes V., Barcelos B., Zani B.H., Shecaira C.L., Baccili C.C. & Benesi F.J. 2013. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. Semina, Ciênc. Agrárias 34:811-816.
- Mattapallil M.J. & Ali S. 1999. Analysis of conserved microsatellite sequences suggests closer relationship between water buffalo *Bubalus bubalis* and sheep *Ovis aries*. DNA Cell Biol. 18:513-519.
- Nielsen L., Kjelgaard-hansen M., Jensen A.L. & Kristensen A.T. 2010. Breed-specific variation of hematologic and biochemical analytes in healthy adult Bernese mountain dogs. Vet. Clin. Pathol. 39:20-28.
- Pires Júnior J.B., Buonora C.R.A.R., Afonso J.A.B., Dantas F.R., Pereira A.L.L., Vieira A.C.S. & Mendonça C.L. 2013. Transferência de imunidade passiva em bezerros. Pesq. Vet. Bras. 35:111-116.
- Rosset E., Rannou B., Casseleux G., Chalvet-Monfray K. & Buff S. 2012. Age-related changes in biochemical and hematologic variables in borzoi and Beagle puppies from birth to 8 weeks. Vet. Clin. Pathol. 41:272-282.
- Silva J.A.R., Araújo A.A., Júnior J.B.L., Viana R.B., Santos N.F.A. & Garcia A.R. 2011. Perfil hematológico de búfalos da raça Murrah, criadas ao sol e a sombra, em clima tropical da Amazônia Oriental. Acta Amazônica 41:425-430.
- Silva M.B., D'Angelino J., Araújo U.P., Galhardo M. & Garcia M. 1992. Avaliação do eritrograma de búfalos (*Bubalus bubalis*) criados na região do Vale do Ribeira em São Paulo. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 29:113-119.
- Takeshita R.S.C., Monteiro F.O.B., Lins e Lins F.L.M., Silva G.A., Faturi C., Coutinho L.N., Monteiro M.V.B., Kugelmeier T., Castro P.H.G. & Muniz J.A.P.C. 2011. Hematological, hepatic, and renal evaluation in *Aotus azarae infulatus*. J. Med. Primatol. 40:104-110.
- Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., Denicola D., Lassen E.D., Rebar A. & Weise R.G. 2007. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2ª ed. Roca, São Paulo. 582p.