

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA

Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

PERFIL SANGUÍNEO DE ÉGUAS  
QUARTO DE MILHA  
ALIMENTADAS COM FENO E *HAYLAGE* DE  
TIFTON-85  
(*Cynodon* spp.)

TACIANO COUTO GUIMARÃES

Belo Horizonte – MG  
2015

Taciano Couto Guimarães

PERFIL SANGUÍNEO DE ÉGUAS QUARTO DE MILHA  
ALIMENTADAS COM FENO E *HAYLAGE* DE TIFTON-85 (*Cynodon*  
spp.)

Dissertação apresentada à Escola de  
Medicina Veterinária da UFMG como  
parte do requisito para obtenção do grau  
de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Toxicologia animal  
Orientadora: Profa. Dra. Marília Martins Melo

Belo Horizonte  
UFMG - Escola de Veterinária  
2015

G963p Guimarães, Taciano Couto, 1975-  
Perfil sanguíneo de éguas Quarto de Milha alimentadas com feno e haylage de Tifton-85 (Cynodon spp.) / Taciano Couto Guimarães. – 2015.  
110 p. : il.

Orientadora: Marília Martins Melo  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.  
Inclui bibliografia

1. Égua – Alimentação e rações – Teses. 2. Sangue – Exame – Tese. 3. Hematologia veterinária – Teses. 4. Bioquímica veterinária – Teses. 5. Micotoxinas – Teses. I. Melo, Marília Martins. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.  
III. Título.

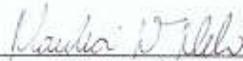
CDD – 636.089 615

## FOLHA DE APROVAÇÃO

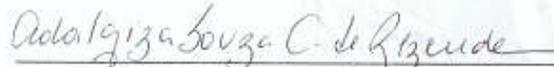
**TACIANO COUTO GUIMARÃES**

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

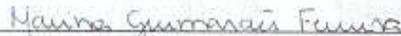
Aprovada em 27 de fevereiro de 2015, pela banca constituída pelos membros:



Prof<sup>a</sup>. Marília Martins Melo  
Presidente - Orientadora



Prof<sup>a</sup>. Adalgiza Souza Carneiro de Rezende  
Universidade Federal de Minas Gerais - Escola de Veterinária



Dr<sup>a</sup>. Marina Guimarães Ferreira  
Pós Doutoranda - Escola de Veterinária UFMG



## AGRADECIMENTOS

Ao Cosmos pela oportunidade da vida e pela condução desta pelos caminhos da evolução.

A amiga, minha orientadora, Marília Martins Melo, que sempre me recebeu de braços abertos. Com muita paciência e compreensão me ensinou a caminhar para horizontes mais longínquos, e compartilhou a felicidade de uma conquista. Pela pessoa que é, pela calma transmitida, me mostrando que “sempre dá tempo”.

A “coleguinha” Heloisa de Paula Pedroza, pelos momentos de compartilhamento de conhecimento e risadas de graça.

Aos meus pais e irmãos, que nunca mediram esforços para o meu crescimento pessoal e profissional. Principalmente por acreditarem que é nos tropeços que alcançamos caminhos desconhecidos. “Um olhar vale mais que mil palavras”.

A minha esposa e filha, pelo simples fato de estarem em minha vida. Companheiras e apoio.

A amiga, Dra. Liliane Menezes, por reconhecer e valorizar um esforço, pela amizade, pela ajuda e dicas. E por vezes, pelas palavras ditas.

Aos membros da banca, Profa. Dra. Adalgiza Souza Carneiro de Rezende, por compartilhar de seu conhecimento e pela pessoa que é. A Dra. Marina Guimarães Ferreira, por se prontificar a ajudar neste trabalho e principalmente, ensinar que é possível “receber muito mais se doando”.

A doutora Maria Lindomárcia Costa, por compartilhar dos resultados de seu trabalho e assim possibilitar mais dados sobre o tema.

Aos amigos por estarem presentes, mesmo que alguns à distância.

A todos que me ajudaram direta e indiretamente no desenvolvimento deste trabalho.

E, por fim, e não menos importantes, aos cavalos, seres nobres e amigos, que com respeito e afeto me mostraram que os “brutos também amam” e que é na “humildade que surgem os reis”.

MUITO OBRIGADO!

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE GRÁFICOS	10
LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE ABREVIATURAS	15
RESUMO	16
<i>ABSTRACT</i>	17
1. INTRODUÇÃO	19
2. LITERATURA CONSULTADA	20
2.1. O equino e sua nutrição	20
2.2. Digestibilidade de alimentos para equinos	21
2.3. Pastagens	21
2.4. Pré-secado	23
2.4.1. Pré-secado de Tifton-85	24
2.5. Micotoxinas e as forrageiras..	25
2.5.1. Aflatoxinas	28
2.5.2. Zearalenona	29
2.5.3. Fumonisinias	29
2.6. Micotoxinas e a qualidade nutricional das forrageiras	31
2.7. <i>Haylage</i> de Tifton-85 e Micotoxinas	32
2.8. Parasitos gastrintestinais e animais semi estabulados e estabulados	32
2.9. Saúde animal e Nutrição	34
2.10. Análises hematológicas e bioquímicas	34
2.10.1 Hematologia clínica	35
2.10.1.1. Série vermelha	35
2.10.1.2. Série branca	36
2.10.2. Bioquímica sanguínea	38
2.10.2.1. Proteínas totais	38
2.10.2.2. Aspartato aminotransferase	42

2.10.2.3. Alanina aminotransferase	42
2.10.2.4. Gama glutamiltransferase	42
2.10.2.5. Fosfatase alcalina	43
2.10.2.6. Uréia e creatinina	43
2.10.2.7. Cálcio/Fósforo	45
3. OBJETIVOS	46
3.1. Objetivo geral	46
3.2. Objetivos específicos	46
4. MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1. Animais	48
4.2. Coletas de sangue.	51
4.3. Exames laboratoriais	52
4.4. Análises estatísticas	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1. Concentração de Micotoxinas	54
5.2. Avaliações físicas	55
5.3. Análises laboratoriais	55
5.3.1. Hematologia	57
5.3.1.1. Contagem de eritrócitos	57
5.3.1.2. Concentração de hemoglobina	57
5.3.1.3. Volume globular	59
5.3.1.4. Índices hematimétricos	60
5.3.2. Contagem total de leucócitos	65
5.3.3. Contagem diferencial de leucócitos	66
5.4. Perfil bioquímico sanguíneo	70
5.4.1. Proteínas séricas totais	73
5.4.2. Proteínas séricas fracionadas	74
5.5. Enzimas	88
5.5.1. Gama glutamiltransferase	88
5.5.2. Aspartato aminotransferase	89

5.5.3. Alanina aminotransferase	90
5.5.4. Fosfatase alcalina	91
5.6. Uréia e creatinina	93
5.7. Relação Cálcio/Fósforo	95
6. CONCLUSÕES	99
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais micotoxinas e fungos que acometem equinos	26
Tabela 2. Micotoxinas, espécies afetadas e principais sinais clínicos	27
Tabela 3. Presença/intensidade dos sintomas clínicos e principais micotoxinas	30
Tabela 4. Composição do sal mineral fornecido aos animais do experimento	49
Tabela 5. Composição da dieta fornecida aos animais do experimento	50
Tabela 6. Composição química do Tifton-85	51
Tabela 7. Concentrações das micotoxinas pesquisadas no experimento	54
Tabela 8. Valores médios e coeficiente de variação do número de eritrócitos/ $\mu\text{L}$ (hemácias), hemoglobina g/dL, VG%, VGM/ $\mu^3$ , HGMpg e CHGM% de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	56
Tabela 9. Valores médios e coeficiente de variação da contagem total de leucócitos/ $\mu\text{L}$ , linfócitos/ $\mu\text{L}$ , neutrófilos/ $\mu\text{L}$ , eosinófilos/ $\mu\text{L}$ , monócitos/ $\mu\text{L}$ e basófilos/ $\mu\text{L}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	64
Tabela 10. Valores médios e coeficiente de variação das proteínas g/dL (totais e fracionadas): albumina, $\alpha 1a$ , $\alpha 1b$ , $\alpha 2a$ , $\alpha 2b$ , $\beta 1$ , $\beta 2a$ , $\beta 2b$ e gamaglobulinas de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	71
Tabela 11. Valores médios da relação Albumina/Globulinas (g/dL) de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	86
Tabela 12. Valores médios e coeficiente de variação das enzimas (U/L) GGT, AST, ALT e FA e dos produtos de catabolismo (mg/dL) uréia e creatinina de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	87
Tabela 13. Valores médios de Ca e P (mg/dL) e da relação Ca/P de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	97

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comportamento dos valores médios do número de eritrócitos/ $\mu\text{l}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	57
Gráfico 2. Comportamento dos valores médios da concentração de hemoglobina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	58
Gráfico 3. Comportamento dos valores médios de VG% de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	60
Gráfico 4. Comportamento dos valores médios de $\text{VGM}\mu^3$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	61
Gráfico 5. Comportamento dos valores médios de HGM pg de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	62
Gráfico 6. Comportamento dos valores médios de CHGM % de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	63
Gráfico 7. Comportamento dos valores médios do número total de leucócitos/ $\mu\text{l}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	65
Gráfico 8. Comportamento dos valores médios do número total de linfócitos/ $\mu\text{l}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	66
Gráfico 9. Comportamento dos valores médios do número total de neutrófilos/ $\mu\text{l}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	67

Gráfico 10. Comportamento dos valores médios do número total de eosinófilos/ $\mu\text{l}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	68
Gráfico 11. Comportamento dos valores médios do número total de monócitos/ $\mu\text{l}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	69
Gráfico 12. Comportamento dos valores médios do número total de basófilos/ $\mu\text{l}$ de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	69
Gráfico 13. Comportamento dos valores médios de proteína séricas totais g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	73
Gráfico 14. Comportamento dos valores médios de albumina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	76
Gráfico 15. Comportamento dos valores médios de $\alpha$ 1a-globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	78
Gráfico 16. Comportamento dos valores médios de $\alpha$ 1b-globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	79
Gráfico 17. Comportamento dos valores médios de $\alpha$ 2a-globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	80
Gráfico 18. Comportamento dos valores médios de $\alpha$ 2b-globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	81
Gráfico 19. Comportamento dos valores médios de $\beta$ 1-globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	82

Gráfico 20. Comportamento dos valores médios de $\beta$ 2a-globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	83
Gráfico 21. Comportamento dos valores médios de $\beta$ 2b-globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	84
Gráfico 22. Comportamento dos valores médios de $\gamma$ -globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	85
Gráfico 23. Comportamento dos valores médios da relação Albumina/Globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	86
Gráfico 24. Comportamento dos valores médios de GGT UI/L de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	89
Gráfico 25. Comportamento dos valores médios de AST UI/L de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	91
Gráfico 26. Comportamento dos valores médios de ALT UI/L de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	91
Gráfico 27. Comportamento dos valores médios de Fosfatase Alcalina UI/L de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	93
Gráfico 28. Comportamento dos valores médios de Uréia g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85 (GRUPO <i>HAYLAGE</i> )	94
Gráfico 29. Comportamento dos valores médios de Creatinina mg/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e <i>haylage</i> de Tifton-85	95

(GRUPO *HAYLAGE*)

Gráficos 30. Comportamento dos valores médios do Fósforo mg/dl de equinos 98  
após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO  
*HAYLAGE*)

Gráficos 31. Comportamento dos valores médios do Cálcio mg/dl de equinos 99  
após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO  
*HAYLAGE*)

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pastagem de Tifton-85 ( <i>Cynodon</i> spp)	23
Figura 2. Pré-secado de Tifton-85 ( <i>Cynodon</i> spp)	25
Figura 3. Abertura do material: pré-secado de Tifton-85 ( <i>Cynodon</i> spp)	48
Figura 4. Animais utilizados no experimento	49
Figura 5. Géis de agarose demonstrando o fracionamento eletroforético das proteínas plasmáticas de equinos. Notar a formação de nove bandas distintas	74
Figura 6. Perfil eletroforético demonstrando as nove frações protéicas séricas de equinos	75

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
Ca	Cálcio
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
CMS	Consumo de Matéria Seca
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EB	Energia Bruta
FA	Fosfatase Alcalina
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
GGT	Gama Glutamil Transferase
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HGM	Hemoglobina Globular Média
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Ig	Imunoglobulina
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MM	Matéria Mineral
MS	Matéria Seca
P	Fósforo
PB	Proteína Bruta
ppb	Partes por Bilhão
ppm	Partes por Milhão
PT	Proteínas Totais
PV	Peso Vivo
UI	Unidades Internacionais
VG	Volume Globular
VGM	Volume Globular Médio

## RESUMO

O capim Tifton-85 (*Cynodon spp*) vem sendo utilizado na alimentação de equinos na forma de pré-secado (*haylage*) e feno, todavia não existem estudos conclusivos, especialmente, da influência da *haylage* sobre o estado de saúde desta espécie. Portanto, esta pesquisa objetivou avaliar o perfil sanguíneo (hemograma, enzimas, íons e proteínas séricas) como indicador de higidez de éguas Quarto de Milha alimentadas à base de *haylage* e feno de Tifton-85. A gramínea utilizada foi cortada com 30 dias de crescimento e para produção da *haylage* e permaneceu no campo até atingir 70% de matéria seca, quando foi recolhida. Foram utilizadas 12 éguas da raça Quarto de Milha com idade entre 8 e 12 anos e com peso vivo médio inicial de 451,58 kg. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (n=6) que consistiram os tratamentos experimentais, os quais diferiram pela oferta de volumoso (feno ou *haylage*). O grupo 1 teve a dieta composta por feno de Tifton-85 e concentrado e o grupo 2 foi alimentado com *haylage* de Tifton-85 e concentrado. As dietas foram fornecidas durante 28 dias, acompanhadas de cinco coletas de sangue dos animais, com intervalos de uma semana cada. Foram pesquisadas micotoxinas (aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona) na *haylage* por método imunoenzimático. As concentrações de micotoxinas encontradas na *haylage* foram: 0,95 µg/kg para aflatoxinas; 0,60 mg/kg para fumonisinas e 0,71 µg/kg de zearalenona. Todos estes valores encontram-se abaixo do valor permitido pela legislação brasileira, que é de 20 µg/kg para aflatoxinas e 5mg/kg para fumonisinas. Em relação eritrograma, observou-se discreta diminuição da concentração de hemoglobina, do hematócrito e do volume globular médio (VGM) após a administração tanto do feno como da *haylage*. Em relação ao leucograma, observou-se aumento dos leucócitos totais nas coletas iniciais em ambos os grupos (*haylage* e feno de Tifton-85), sem significado clínico. O proteinograma revelou discreta diminuição nos valores de albumina sem alterações na proteína total, frações  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -globulinas e na relação albumina/globulina. No perfil bioquímico, observou-se discreto aumento da enzima gama glutamiltransferase e aumento significativo ( $P < 0,05$ ) da fosfatase alcalina nos animais

que receberam feno de Tifton-85, possivelmente de origem gestacional (placentária). Conclui-se que, éguas adultas Quarto de Milha após ingestão de feno e *haylage* de Tifton-85 não apresentaram alterações no perfil hematológico e bioquímico que demonstrem prejuízo à saúde.

Palavras-chave: Tifton-85, *haylage*, micotoxinas, perfil sanguíneo, perfil bioquímico, éguas quarto de milha.

#### ABSTRACT

Tifton-85 grass (*Cynodon* spp) has been used in equine nutrition in the form of pre-dried (*haylage*) and hay, however, there are no conclusive studies, especially about the influence of *haylage*, on blood profile of this species. Therefore, the aim of this study was to evaluate the blood profile, ions, proteins and serum enzymes as health indicators of mares *Quarter Horse* were fed with *haylage* and Tifton-85 hay. The grass used was cut with 30 days of growth and it remained in the field until it had 70% of dry matter, when it was collected. Twelvy mares *Quarter Horse* aged 8-12 years, with average weight of 451.58 kg were used. The animals were divided randomly into two groups (n = 6), differing from one another by the supply of forage (hay or *haylage*). Group 1 (HAY GROUP) had a diet consisting of hay and Tifton-85 concentrated and Group 2 (HAYLAGE GROUP) was fed *haylage* Tifton-85 and concentrated. The mares were fed with theses diets during 28 days and there blood was collected at intervals of one week each. Three mycotoxins were researched (aflatoxins, fumonisins and zearalenone) in the *haylage* by enzyme immunoassay. The concentrations of mycotoxins in *haylage* were: 0.95 mg / kg for aflatoxin; 0.60 mg / kg for fumonisin and 0.71 mg / kg of zearalenone. All these values are below the limit value of the Brazilian law, which is 20 mg/kg for aflatoxin and 5 mg/kg for fumonisin. In the erythrogram, it was detected a decrease in the hemoglobin concentration, packed cell volume and mean cell volume after the administration in both groups. The white blood count increased in both groups, nevertheless, the values remained within normal limits without clinical significance. The protein profile revealed a discrete reduction in albumin levels, without any

alterations on total protein,  $\alpha$  fractions,  $\beta$  and  $\gamma$ -globulins and albumin / globulin. In the biochemical profile it was observed a slight increase of glutamyl enzyme and a significance increase ( $P < 0.05$ ) of alkaline phosphatase in the animals fed with hay Tifton -85, probably due to the pregnancy. In conclusion, adult mares *Quarter Horse*, after the intake of hay and haylage Tifton-85, showed no alterations in blood or biochemical profile.

Keywords: Tifton-85 haylage, mycotoxins, blood profile, biochemical profile, quarter mile mares.

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo estatísticas do Ministério da Agricultura, o Brasil possui o maior rebanho de equídeos na América Latina e o terceiro mundial. Somados aos muares e asininos são oito milhões de cabeças, movimentando mais de R\$ 7,3 bilhões, somente com a produção de cavalos (MAPA, 2014).

A maior população brasileira de equinos encontra-se na região Sudeste, seguida pelas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Norte. Destaca-se que no Nordeste, além de equinos, concentra-se o maior registro de asininos e muares. O rebanho envolve mais de 30 segmentos, distribuídos entre insumos, criação e destinação final e compõe a base do chamado “Complexo do Agronegócio Cavalos”, responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (MAPA, 2014).

Tendo isto em vista, muitos pesquisadores como Carvalho (1987), Brandi (2009), Domingues (2009) e Santos (2012) relatam que cuidar da saúde do equino é de primordial importância para a economia do país, e um dos fatores principais que contribui com a maximização do estado de saúde é a alimentação. Pesquisas nesta área estão avançando, inclusive com o aprimoramento de novas forrageiras, como exemplo, o capim Tifton-85 (Silva, 2002; Alfonzo, 2011b; Costa, 2012).

Sabe-se da grande utilização do Tifton-85 como volumoso para os animais, além do seu uso na forma de pré-secado (*haylage*). Entretanto alguns proprietários atribuem algumas alterações de saúde nos equinos após ingestão da *haylage* de Tifton-85. Uma das alegações seria o baixo valor nutricional deste volumoso; todavia, Costa (2012) em seu trabalho sobre a utilização da *haylage* de Tifton 85 (*Cynodon* spp.) na dieta de equinos demonstrou que o valor protéico e nutricional supre perfeitamente as necessidades dos animais, desmistificando esta afirmativa. Outra possível causa seria a contaminação por micotoxinas produzidas tanto na fenação, como na ensilagem do Tifton-85 (Domingues, 2009; Silva et al., 2010; Alfonzo et al., 2011a).

Micotoxinas são metabólitos secundários de fungos que podem se desenvolver em forrageiras (Freire et al., 2007; Pereira e Santos et al., 2011). Como exemplos, podem ser citadas as fumonisinas, produzidas pelo fungo *Fusarium verticillioides*,

causadoras de leucoencefalomalácia nos equinos; as aflatoxinas, produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*, principalmente, que provocam disfunções hepáticas em equinos, altamente cancerígenas, e ainda, a zearalenona, que é produzida pelo fungo *Fusarium graminearum*, como outras espécies, podendo levar a problemas reprodutivos (Hussein e Brasel, 2001; Jobim et al., 2001).

Diante deste contexto é imperativa a pesquisa de micotoxinas na *haylage* de Tifton-85 e o estudo dos possíveis efeitos deste volumoso no perfil sanguíneo (hemograma e bioquímica sanguínea) de equinos hípidos.

## 2. LITERATURA CONSULTADA

### 2.1. O equino e sua nutrição

O cavalo é um animal que apresenta cerca de 70 milhões de anos de evolução. Ao longo dos anos, ele desenvolveu habilidades e características físicas e fisiológicas para alcançar a atual conformação apresentada hoje. Uma destas características foi seu hábito alimentar. O equino é um herbívoro monogástrico não ruminante capaz de suprir grande parte ou a totalidade da sua demanda nutricional pela ingestão de gramíneas. Pastejam durante 10 a 12 horas do dia, em turnos de 2 a 3 horas. Estes turnos são compostos ainda pelos períodos de descanso, locomoção e relações sociais (Santos et al., 2012). É um animal habituado a refeições pequenas e frequentes, isto vem do fato de o cavalo ter sido sempre presa e não predador na cadeia alimentar ao longo da evolução, forçando os mesmo a desenvolver hábitos alimentares que permitissem sua nutrição em constante movimentação (Brandi e Furtado, 2009; Santos et al., 2012).

O equino apresenta a região ceco-cólica bastante desenvolvida, habitado por bactérias que digerem fibras da dieta e as transformam em nutrientes como energia e vitaminas, sendo, portanto, o seu principal sítio de fermentação (Brandi e Furtado, 2009).

## 2.2. Digestibilidade de alimentos para equinos

As informações sobre digestibilidade dos nutrientes em vários alimentos para equinos são consideravelmente limitadas. Desta forma, o estudo de alimentos alternativos para compor a alimentação para a espécie equina é muito importante. Costa (2012) trabalhando com o pré-secado (*haylage*) de Tifton-85 (*Cynodon* spp) encontrou resultados satisfatórios de digestibilidade da matéria seca em torno de 90%, concluindo que dietas com *haylage* de Tifton-85 apresentaram maior digestibilidade da proteína quando comparada com dietas de feno da mesma gramínea.

Segundo Domingues (2009), para os equinos, o alimento completo, deve conter não apenas os nutrientes básicos necessários, como também devem estar em perfeito equilíbrio. A exigência nutricional dos equinos é composta por dois fatores principais: (1) exigência de manutenção (manutenção) e, (2) exigência para as atividades físicas. O autor também relatou a importância da água para o equino. Cerca de 60 a 70% da massa corporal deste animal é composta por água, e essa auxilia na manutenção das funções vitais.

Jobim et al. (2001) afirmaram que o volumoso, outro nutriente importantíssimo da dieta animal, deve compor 50% de toda matéria seca consumida pelo cavalo, no mínimo. Ressalta-se que o cavalo consome em média 3% de seu peso vivo em matéria seca por dia.

Santos et al. (2012) trabalhando com manejo alimentar de equinos salientaram que a energia (obtida principalmente através dos concentrados) deve compor entre 10 e 15 % do alimento fornecido ao animal. As proteínas (obtidas pela ingestão de volumosos de boa qualidade) devem ficar entre 15% da dieta, pois as exigências diárias são baixas. Os minerais devem ser fornecidos através de sal mineralizado, observando que a relação Ca:P não deve estar abaixo de 1:1 e acima de 3:1.

## 2.3. Pastagens

As pastagens sempre foram o alimento natural dos equinos, onde eles desenvolveram-se durante séculos. Eram formadas por diferentes espécies vegetais que serviam para uma dieta completa, escolhidas livremente pelos animais (Dittrich et al.,

2010). Atualmente, com o avanço do conhecimento em nutrição, as pastagens continuam a ser fundamentais, mesmo na criação intensiva. Contudo, estas estão sendo processadas e transformadas em fenos e silagens, o que proporciona a manutenção da boa saúde durante todo o ano (Carvalho e Haddad, 1987).

O feno é uma forma de conservação de forragens que facilita o manuseio de volumoso com bom valor nutritivo quando bem elaborado e armazenado (Domingues, 2009). Entretanto, segundo Reis et al. (2003), a espécie e idade das plantas forrageiras interferem na obtenção de um feno de alta qualidade.

Domingues (2009) também ressalta que o manejo adotado, tanto na desidratação como no armazenamento, interfere diretamente na qualidade químico-bromatológica e sanitária do feno (crescimento de microorganismos como fungos e bactérias), bem como nas perdas no processo de produção.

Já a conservação de forragens na forma de silagem é uma importante alternativa para o fornecimento de volumoso de qualidade nas entressafras de produção de forragem, e tem como princípio a fermentação anaeróbia, produzindo ácidos orgânicos, promovendo a queda do pH e, conseqüentemente preservando a qualidade do material ensilado. Entretanto o processo de ensilagem acarreta profundas modificações na população de microorganismos resultantes das condições anaeróbias dentro do silo, das alterações na pressão osmótica e no pH da silagem, o que pode favorecer o crescimento de fungos e possíveis micotoxinas (Domingues, 2009; Costa, 2012).



Figura 1. Pastagem de Tifton-85 (*Cynodon spp*)

(Fonte: arquivo pessoal de Costa, 2012)

#### 2.4. Pré-secado

Os pré-secados são forragens conservadas obtidas por um processo intermediário à fenação e ensilagem, baseado na secagem parcial das forragens e na sua fermentação por microrganismos sob condições aeróbicas (Costa, 2012).

As silagens são obtidas principalmente de culturas ricas em grãos e apresentam matéria seca entre 30 e 45%, sendo preservada por acidez, resultante principalmente da ação de bactérias lácticas que proporciona um pH entre 3,5 e 4,5. Domingues (2009), trabalhando com volumosos na alimentação de equinos, afirmou que os pré-secados apresentam menor acidez e umidade, com matéria seca entre 50 a 60%, apresentando maiores teores de proteína e vitaminas que os fenos, pelo fato de serem cortados em estágios vegetativos mais jovens e ficarem menos tempo expostos ao sol que os primeiros.

O manejo dos pré-secados deve evitar presença de fungos ou bactérias causadoras de fermentação indesejada, uma vez que a alta umidade e baixa acidez

favorecem o desenvolvimento de fungos toxigênicos de armazenamento, como exemplo *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus parasiticus* produtores de aflatoxinas, ou mesmo de *Clostridium* sp. (Jobim et al., 2001).

#### 2.4.1. Pré-secado de Tifton-85

Tifton-85 é uma gramínea do gênero *Cynodon* spp, híbrido estéril resultante do cruzamento da Tifton-68 com a espécie *Bermuda grass* da África do Sul (PI 290884), que é considerada a melhor do mundo existente no gênero. Foi desenvolvida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América do Norte em cooperação com a Universidade da Geórgia, na estação experimental de tifton, pela equipe do professor Dr. Burton; registrada e liberada para plantio em 31/10/92. Introduzida no Brasil a partir de 1993, vem resistindo e se mantendo verde diante das geadas e secas prolongadas ocorridas a partir de 1994 (Coperdia, 2010).

O capim Tifton-85 é amplamente utilizado para produção de feno devido às suas características estruturais favoráveis a rápida desidratação como hastes finas e alta relação folha/colmo (Domingues, 2009, Dittrichi et al., 2010).

O processamento em *haylage* pode ser definido como forragem emurhecida e ensilada pré seca, com alto teor de matéria seca, que atinge concentrações acima de 50%, podendo atingir 75%, sendo confeccionada no formato de pequenos fardos, com aproximadamente 20 kg. O mecanismo de conservação é semelhante ao das demais silagens, contudo, o processo fermentativo é limitado, o que conseqüentemente reduz a produção de ácidos orgânicos e a queda do pH, sendo por isso, mais indicada para compor a dieta dos equinos (Costa, 2012).



Figura 2. Pré-secado (*haylage*) de Tifton-85 (*Cynodon sp.*) ensacado a vácuo

Fonte: Arquivo pessoal de Costa, 2012.

Independente do processo de conservação da forrageira, seja fenação ou ensilagem, o estudo da influência desta na saúde do animal é importante, uma vez que pode acontecer uma queda na concentração de algum fator nutritivo desta forrageira, como enzimas, sais minerais, dentre outros, podendo afetar a fisiologia do animal e até mesmo do rebanho. Estes processos de conservação podem também favorecer o crescimento de microorganismos como fungos que podem produzir micotoxinas, uma vez que se modifica o pH e umidade da forrageira.

#### 2.5. Micotoxinas e as forrageiras

Micotoxinas, metabólitos secundários produzidos por fungos, podem causar efeitos adversos e graves em animais e humanos (Freire et al.,2007). Há muitos desses compostos, mas apenas alguns são regularmente encontrados em rações animais e alimentos, como grãos, forrageiras e sementes (Tabela 1).

Dilkin e Mallmann (2004) afirmaram que são graves os efeitos de algumas micotoxinas relacionadas com alimentos para animais, principalmente em equinos, causando grandes prejuízos econômicos, seja pelo atraso no ganho de peso, imunossupressão e morte.

Tabela 1. Principais micotoxinas e fungos que acometem equinos

<b>Micotoxinas</b>	<b>Fungo</b>	<b>Alimentos</b>
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Milho, trigo, triticale, centeio e cevada
Fumonisinias	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. nygamai</i>	Milho e seus subprodutos
Tricotecenos	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. trincinctum</i> , <i>F. sporotrichoides</i> , <i>F. culmorum</i>	Milho, trigo, cevada, aveia, centeio e gramíneas
Zearalenona	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. trincinctum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i>	Milho, trigo, triticale, centeio, cevada e gramíneas
Ocratoxina A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Trigo, triticale, centeio, cevada e Milho
Alcalóides ergóticos	<i>Claviceps purpúrea</i> , <i>Neotyphodium loli</i> , <i>N. coenophialum</i>	Trigo, triticale, centeio, cevada e Gramíneas

Adaptado de Butolo (2001) e Driehwis (2011) citado por Costa (2012)

Muitas micotoxinas afetam os animais após ingestão por longos períodos com efeitos crônicos ou cumulativos, incluindo carcinogênese e imunodepressão (Hussein e Brasel, 2001). A elevada toxicidade pode ser decorrente de interações entre diferentes micotoxinas, que exarcebam os sintomas (Andretta et al., 2009). Os limiares de toxicidade variam entre equinos de acordo com a saúde, nível de trabalho e estágio reprodutivo desta espécie. Micotoxinas raramente ocorrem isoladamente e seus efeitos são sinérgicos ou cumulativos, contribuindo para a maior gravidade dos sintomas (Knowmicotoxins, 2014).

Apesar de os equinos serem monogástricos, estes são mais susceptíveis aos efeitos das micotoxinas do que os ruminantes (Brandi e Furtado, 2009; Santos et al., 2012). Os cavalos absorvem as micotoxinas ingeridas na ração ou em forrageiras contaminadas antes que ocorra a fermentação pós-gástrica. As micotoxinas chegam ao

intestino delgado onde exercem seus efeitos sobre a parede intestinal, sendo absorvidas e distribuídas através da corrente sanguínea (Knowmicotoxins (2014). Algumas micotoxinas somente após metabolização hepática manifestam seus efeitos tóxicos, outras como as fumonisinas não precisam da metabolização hepática para apresentar, por exemplo, competição inibitória da síntese dos esfingolípídeos no organismo (Freire et al., 2007).

Todavia, Nascimento et al. (2000) afirmaram que as forrageiras com presença de fungos, seriam menos palatáveis e haveria uma recusa e diminuição no consumo voluntário destes fenos por parte dos equinos, levando à diminuição na ingestão das toxinas fúngicas, quando presentes. O mesmo não ocorre na contaminação fúngica em grãos.

São conhecidos vários gêneros de fungos produtores de micotoxinas, podendo ser destacados *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* produtores das principais micotoxinas tais como as fumonisinas, aflatoxinas e zearalenona (Tabela 2) que podem afetar a saúde dos equinos (Mallmann et al., 1999).

Tabela 2. Micotoxinas, espécies afetadas e principais sinais clínicos

<b>Micotoxinas</b>	<b>Espécies afetadas</b>	<b>Sinais clínicos e lesões</b>
Aflatoxinas	Todas	Redução de ganho de peso, desordens digestivas, hepatopatia, anorexia, ataxias, tremores e morte.
Zearalenona	Suínos	Vulvovaginite.
Fumonisinás	Equinos, suínos, aves	Leucoencefalomalácia equina, edema pulmonar suíno e menor desempenho reprodutivo.
Tricotecenos	Monogástricos	Redução/recusa da ingestão de alimentos, vômitos e hemorragias.
Ocratoxinas	Suínos e humanos	Nefropatia.

Fonte: pt.engormix.com (acessado em 08/08/2014)

### 2.5.1. Aflatoxinas

As aflatoxinas, derivados da difuranocumarina, são mais presentes em condições de clima quente e úmido: temperaturas superiores a 21°C e níveis de umidade acima de 14%. Podem ser produzidas principalmente por algumas espécies de *Aspergillus*, tais como *A. parasiticus* e *A. flavus*. Já foram descritas várias aflatoxinas de ocorrência natural: AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 sendo a AFB1, a mais comum e de maior atividade biológica. O principal substrato é o milho, e a contaminação pode ocorrer tanto no campo (quando as condições ambientais são favoráveis) quanto durante a armazenagem (Harland et al., 1975; Kawashima, 2004).

A biotransformação de AFB1 em AFB1-2, 3-epóxido envolve uma série de reações metabólicas tais como redução, hidroxilação, hidratação e epoxidação. O AFB1-2, 3-epóxido é o metabólito mais reativo e acredita-se que seja responsável por mutações somáticas e carcinogênese (Dilkin e Mallmann, 2004).

As aflatoxinas são prontamente absorvidas do trato gastrointestinal para a corrente sanguínea e se acumulam na maior parte dos tecidos, tais como fígado, rins e depósitos de gordura corporal. As aflatoxinas absorvidas sofrem biotransformação enzimática através da via do citocromo P-450, produzindo diversos metabólitos e são rapidamente excretadas através da urina e fezes (Harland et al., 1975).

As características mais comuns da aflatoxicose em equinos são lesões hepáticas e hiperplasia de dutos biliares (Correa et al., 1998). Harland et al. (1975) afirmaram que estas lesões poderiam ser consideradas patognomônicas da aflatoxicose em equinos. As lesões hepáticas observadas macro e microscopicamente são características da aflatoxicose também em outras espécies, tais como degeneração gordurosa dos hepatócitos e necrose, que resultam em alteração da função hepática. A supressão da síntese hepática de proteínas é o principal fator resultando em supressão do crescimento. Sabe-se que a aflatoxina também interfere com o metabolismo de vitamina D, contribuindo para a perda de resistência óssea. Ao reduzir a produção de sais biliares, a aflatoxina afeta negativamente a absorção de lipídeos e pigmentos. Além disso, o metabolismo de outros minerais como ferro, fósforo e cobre também é afetado por

aflatoxinas. Ressalta-se que, além da ingestão juntamente com alimentos contaminados, os cavalos também podem ser expostos à AFB1 através de inalação (Knowmicotoxins, 2014).

### 2.5.2. Zearalenona

A zearalenona (ZEA) geralmente ocorre em grãos, palha e forragem e é responsável por distúrbios reprodutivos devido a seus efeitos estrogênicos. ZEA não é tóxica por si só, ainda que seja biologicamente potente e exerça atividade estrogênica não esteróide, muito semelhante ao 17 $\beta$ -estradiol. ZEA é produzida por espécies de *Fusarium*, contaminantes bastante comuns de diversas culturas de grãos em todo o mundo (Teixeira, 2010).

Embora, a importância dos efeitos reprodutivos negativos da ZEA em suínos e bovinos seja bem conhecida (Tabela 3), existem informações limitadas em cavalos. Quando se observaram os efeitos de várias concentrações de ZEA e seus derivados sobre as células da granulosa de ovários de éguas que estavam ciclando, estas micotoxinas induziram atresia folicular em células da granulosa cultivadas *in vitro*.

Existe a hipótese de que estas micotoxinas possam estar implicadas em falhas reprodutivas de causa desconhecida em éguas (Correa, 2007; Camera e Rosato, 2011).

### 2.5.3. Fumonisinias

O equino é a espécie mais sensível à fumonisinias na ração, encontradas em milho e produzidas pelos fungos *Fusarium moniliforme* e *F. verticillioides* (Mallmann et al., 1999). As fumonisinias foram descritas pela primeira vez em 1988 e a mais abundante é a fumonisinina B. Existem três micotoxinas comuns do grupo das fumonisinias B, FB1, FB2 e FB3. As fumonisinias têm uma estrutura semelhante a das bases esfingóides (esfingosina e esfinganina), que são componentes de moléculas de esfingolipídios, sintetizadores celulares, e podem inibir a esfingosina-esfinganina-transferase e a ceramida sintase (Minami et al., 2004). A toxina FB1 (10ppm) pode causar leucoencefalomalácia equina e, uma vez que sintomas clínicos neurológicos se manifestem, a condição é geralmente fatal. Os sinais clínicos associados à forma neurológica compreendem apatia, ataxia, paralisia da faringe, cegueira, andar em

círculos, instabilidade, convulsões e por fim, decúbito e morte, geralmente dois a três dias após decúbito. Não existem alterações específicas hematológicas ou bioquímicas na leucoencefalomalácia equina. Geralmente, ocorre aumento na concentração de hemoglobina, do hematócrito e das enzimas hepáticas. Para a confirmação do diagnóstico de leucoencefalomalácia são necessários exames macro e microscópicos do cérebro, como o achado da malácia (Mallmann et al., 1999) e diagnóstico diferencial para encefalomielite equina (Riet-Correa et al., 2001).

Milho e derivados podem apresentar intensa contaminação e deveriam ser evitados na dieta de cavalos, especialmente em regiões onde as contaminações forem evidentes (Mallmann et al., 1999). Ressalta-se que fumonisinas e zearalenona são produzidas principalmente durante a fase no campo, de cultivo (Andretta et al., 2009).

Tabela 3. Presença/intensidade dos sintomas clínicos e principais micotoxinas

Sintomas	AFB1	OCRA	DON	T-T2	FB1	ZEA
Morte súbita	+	+			+++	
Anorexia	+	+	+++	+++	+	
Taxa de crescimento	+++	+	+	+	+	
Dano hepático	+++	+			++	
Dano renal		+++			+	
Vômito		+	+++	+++	+	
Aborto					+	
Infertilidade						++
Vulvovaginite						+++
Edema pulmonar					+++	+++
Imunossupressão	+++	+	++	++	+++	+

Fonte: pt.engormix.com (acessado em 08/08/2014)

## 2.6. Micotoxinas e a qualidade nutricional das forrageiras

Estudos sobre a presença de fungos em forrageiras e detecção de micotoxinas são mais frequentes do que estudos sobre a interferência destes no valor nutricional nas mesmas.

Silva et al. (2002) estudando o desenvolvimento de microorganismos na silagem de Tifton-85, relataram que a população de fungos de campo é menos diversificada do que a registrada no armazenamento dos feno, ressaltando que os microrganismos presentes são mais termotolerantes do que os de campo.

Domingues (2009) e Martinez et al. (2010) relataram que após infecções causadas por fungos fitopatogênicos, algumas gramíneas forrageiras apresentam alterações bioquímicas que levam à perda da qualidade nutricional, bem como alterações em sua palatabilidade para os animais devido à redução na concentração de proteínas, aminoácidos, açúcares, carboidratos solúveis e na digestibilidade da matéria seca, além do aumento de compostos fenólicos e lignina nas plantas infectadas.

A lignina, juntamente com a celulose e outros polissacarídeos que ocorrem na parede celular das plantas superiores funcionam como uma barreira física à penetração fúngica. Porém, segundo Rego et al. (2003), quanto mais lignificada a parede celular, maior o teor de fibra detergente neutro (FDN) e menor o teor de proteína, dificultando a digestibilidade da forragem, o que provoca menor aceitação por parte dos animais. Com isto, a presença de fungos na forragem conservada tem efeito pronunciado no seu valor nutritivo, pois além de consumirem o conteúdo celular, esses microrganismos produzem toxinas que afetam o metabolismo animal de diferentes maneiras (Reis et al., 2001b). Segundo Silva et al. (2002), a susceptibilidade de diferentes alimentos à infecção por fungos está diretamente relacionada com as características dos mesmos. Os requerimentos básicos para a colonização de forragens e grãos por parte de fungos toxigênicos incluem de forma generalizada: a utilização do substrato como fonte de energia e nutrientes; o teor mínimo de umidade do substrato entre 13 a 25%; a umidade relativa do ar maior que 70%; a presença de oxigênio e a ocorrência de temperaturas apropriadas (Alfonzo et al., 2011b).

## 2.7. *Haylage* de Tifton-85 e micotoxinas

Aparentemente, fenos e silagens comuns acabam se contaminando com fungos, mais do que na forma de *haylage*, uma vez que essa tem processo fermentativo limitado, o que reduz a produção de ácidos orgânicos e a queda do pH (Nascimento et al., 2000).

*Haylage* apresenta maior concentração de ácido acético, provavelmente pela atividade de bactérias heterofermentativas, e com isto as propriedades antifúngicas deste ácido se tornam mais evidentes, mantendo a qualidade da forrageira após abertura dos fardos (Reis et al., 2001a).

Silva et al. (2010) concluíram que a maior desidratação do Tifton-85 influencia positivamente na conservação e resistência desta forrageira contra fungos, confirmando que o método de fenação por *haylage* é melhor para a manutenção das forrageiras.

Segundo Alfonzo et al. (2011a), o Tifton cultivado solteiro é mais susceptível a contaminação por fungos do que o cultivado em consórcio com leguminosas, e que a pré-secagem e a adoção de fermentação superiores a 28 dias melhoram as características microbiológicas da silagem, corroborando que o método de *haylage* melhora a conservação das forrageiras, aliado ao aumento da qualidade nutritiva das mesmas.

A incidência de aflatoxinas em *haylage* é baixa em comparação com outras micotoxinas, provavelmente devido à pouca tolerância de *A. flavus* e *A. parasiticus* ao meio ácido e anaeróbio promovido pela conservação desse produto (Queiroz et al. (2011). Outros pesquisadores também relataram sobre a mudança do meio interferindo no crescimento e desenvolvimento de fungos nas forrageiras (Nascimento et al., 2000; Reis et al., 2001; Freire et al., 2007).

## 2.8. Parasitos gastrintestinais e animais semi estabulados e estabulados

As formas de criação dos equídeos, seja a pasto ou estabulados favorecem a grande incidência de infecções parasitárias, já nas primeiras semanas de vida (Molento, 2005).

As parasitoses gastrintestinais de equinos, geralmente, apresentam-se de forma subclínica, acarretando perdas econômicas significativas em animais utilizados para trabalho, atividades esportivas e reprodução (Riet-Correa et al., 2001). Esses podem ser parasitados por várias espécies de helmintos e/ou protozoários, que causam ocasionalmente, diversos quadros clínicos como diarreias, perda de peso, anemias agudas ou crônicas, crescimento deficiente e cólicas (Riet-Correa et al., 2001; Jacomino et al., 2008; Inácio et al., 2013). Em algumas parasitoses o ciclo evolutivo no hospedeiro é bastante extenso. Tanto a pastagem quanto as camas e bebedouros das baias funcionam como reservatório e veículo da transmissão destes parasitos infectantes para os animais (Jacomino et al., 2008 e Inácio et al., 2013). Esses meios de contágio são influenciados pela temperatura, umidade, incidência de raios solares, evaporação, tipo de pastagem, solo e manejo da estabulação.

Os helmintos podem causar desde um pequeno desconforto abdominal até episódios fulminantes de cólicas e morte. Equinos podem adquirir resistência aos pequenos estrôngilos com a idade, verificados através da redução da carga parasitária e a contagem de ovos nas fezes. Esta resposta é lenta e inconsistente na maioria dos animais e não tem relação com a intensidade do contato parasitário anterior. No entanto, a imunidade adquirida só será desencadeada quando ocorrer o contato do hospedeiro com o parasita. Os componentes da resistência podem ser no início, como um evento ao acaso, onde existe o estabelecimento da resistência, que é influenciado pelo tamanho e pela diversidade da população parasitária. Nesta fase, não se tem controle quanto ao estabelecimento da resistência. Segue-se então o desenvolvimento da resistência que é agravado com o uso de agentes selecionadores, como os compostos químicos, os princípios ativos de antihelmínticos. Caso este processo seja contínuo e a população resistente se encontre em vantagem numérica, ter-se-á então a manifestação da resistência como um problema visível (Molento, 2005).

Jacomino et al. (2008) relataram a incidência de infecção por endoparasitos através da coprofagia, ato de ingerir as próprias fezes, seja por deficiência nutricional quanto por perturbação do comportamento. Inácio et al. (2013) descreveram a alta

resistência e infecção de protozoos nos equinos, com o surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.

## 2.9. Saúde animal e nutrição

A manutenção de uma condição corporal adequada e uma dieta balanceada é fundamental para o sucesso da saúde animal. Um bom manejo alimentar depende do monitoramento da qualidade dos ingredientes assegurando que os animais recebam níveis adequados de nutrientes essenciais. Uma nutrição correta é fundamental para o desenvolvimento e manutenção de um sistema músculo-esquelético saudável, em qualquer fase da vida animal ou atividade que exerça. Portanto, o uso estratégico de recursos que aumente o valor nutritivo do alimento sem contaminação, assegura a saúde do animal (Noletto, 2012; Santos et al., 2012).

## 2.10. Análises hematológicas e bioquímicas

A concentração sanguínea de um determinado metabólito é indicador do volume de reservas de disponibilidade imediata. Esta concentração é mantida dentro de certos limites de variação fisiológica, consideradas como valores de referência. Os animais que apresentarem concentrações sanguíneas fora dos valores de referência são animais que podem estar em desbalanço nutricional, ou alterações orgânicas que condicionam uma diminuição na capacidade de utilização ou biotransformação de nutrientes (Mundim, 2008).

Segundo Ferreira et al. (2006), os parâmetros hematológicos e bioquímicos são ferramentas que auxiliam na clínica e no manejo alimentar do equino. O conhecimento das variações fisiológicas e patológicas dos vários constituintes do sangue é essencial para o clínico veterinário.

A composição bioquímica sanguínea reflete com precisão a situação metabólica dos tecidos animais de forma que, pode-se avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de um determinado órgão, adaptação do animal diante de

desafios nutricionais, fisiológicos, desequilíbrios metabólicos específicos e intoxicações (Gonzáles e Scheffer, 2002).

Ao se estudar a hematologia equina, deve-se considerar que o sangue é constituído por elementos dinâmicos e que fatores como raça, sexo, grau de gestação, idade, exercícios, nutrição e patologias podem influenciar na contagem global e diferencial destes elementos. Sendo assim, pequenas variações na concentração da hemoglobina, no número de eritrócitos e no volume globular podem ser considerados como fisiologicamente normais, considerando cada indivíduo e o tipo de atividade exercida (Kowal et al., 2006; Dias, 2008).

#### 2.10.1. Hematologia clínica

O conhecimento da hematologia clínica veterinária e seus componentes se torna importante para avaliação de quadros de desidratação, desnutrição, anemias, intoxicações e parasitismo sanguíneo, bem como disfunções metabólicas advindo de estresse físico (Thrall et al., 2007).

Para avaliar o hemograma do cavalo deve-se ter em mente que a hematologia desta espécie é única sobre vários aspectos quando comparada com as outras espécies. Uma característica muito importante é que o número de hemácias circulantes é alto devido a grande reserva dessas no baço, que prontamente se contrai em situações de medo ou atividade muscular, liberando-as na circulação em minutos (Jain, 1993).

##### 2.10.1.1. Série Vermelha

O eritrograma inclui as contagens globais de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os eritrócitos apresentam como funções o transporte de oxigênio para os tecidos, transporte de gás carbônico para os pulmões e troca de íons hidrogênio. Valores baixos de eritrócitos podem indicar anemias e valores altos são chamados de eritrocitose e podem indicar policitemia (Thrall et al., 2007).

A vida média de um eritrócito equino dura em torno de 120 a 140 dias, sendo então removido pelo sistema retículoendotelial. No cavalo o baço atua como um grande reservatório de eritrócitos durante o repouso, não diferindo das outras espécies, e sendo que essa reserva pode ser mobilizada para a circulação ativa quando as necessidades por transporte de oxigênio aumentam. Esse fenômeno é mediado por uma contração esplênica induzida por adrenérgicos e ocorre em casos de hemorragias, excitação e exercícios. Nos equinos, os eritrócitos são liberados na corrente sanguínea somente na sua forma madura, sendo que a reticulocitose e a policromasia são extremamente raras em condições de homeostase e anemias moderadas (Dias, 2008).

A hemoglobina é um pigmento proteico que dá a cor vermelha ao sangue e é responsável pelo transporte de oxigênio no corpo. A hemoglobina baixa causa palidez das mucosas e deficiência de oxigênio em todos os órgãos (Thrall et al., 2007).

O hematócrito ou volume globular (VG) é a porcentagem da massa do eritrócito em relação ao volume sanguíneo. Valores baixos podem indicar uma provável anemia e um valor alto também pode ser um caso de policitemia (Kaneko et al., 1997).

VCM auxilia na observação do tamanho dos eritrócitos e no diagnóstico das anemias. As anemias podem ser normocíticas, microcíticas e macrocíticas (Kaneko et al., 1997). HCM representa o peso da hemoglobina dentro das hemácias e também é um índice utilizado para classificar as anemias. E CHCM é a concentração da hemoglobina dentro de uma hemácia, determinando se a anemia é normocrômica, hipocrômica ou hiperocrômica (Thrall et al., 2007).

Aumentos no VG, hemoglobina e no número de eritrócitos podem ser decorrentes da contração esplênica pela ação da epinefrina. Os aumentos no eritrograma podem ser evidenciados após 60 minutos da exposição ao estímulo estressante, dependendo da intensidade do mesmo (Jain, 1993).

#### 2.10.1.2. Série Branca

A segunda parte do hemograma é a série branca (leucograma) constituída pela contagem total e diferencial dos glóbulos brancos ou leucócitos. Os leucócitos incluem os neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos e linfócitos. Todos participam da defesa

orgânica, porém cada um é funcionalmente independente. A função primária dos neutrófilos é a fagocitose e a morte de microorganismos; os eosinófilos têm participação nas respostas alérgica e inflamatória aguda, podendo induzir dano tecidual, além de apresentarem atividade parasiticida; a função dos monócitos é a de imunidade natural e específica. Linfócitos são responsáveis pelas imunidades humoral e celular, regulação imune, atividade citotóxica, vigilância imune e secreção de linfocinas. Basófilos e mastócitos são fontes mediadoras de reações de hipersensibilidade do tipo imediato e são as únicas fontes de heparina e de um ativador da lipase de lipoproteínas do plasma (Duncan et al., 1994).

A determinação do valor total dos leucócitos no sangue é muito importante. Um valor alto, acima do limite de normalidade é chamado leucocitose e pode indicar infecções, doenças bacterianas, estresse, etc. Também pode ocorrer a leucocitose fisiológica, normalmente em animais estressados, sendo mediada principalmente pela liberação de epinefrina e de corticosteróides, levando a liberação de neutrófilos do compartimento marginal para a circulação periférica. Esta neutrofilia pode ser leve a moderada (Thrall et al., 2007).

Um valor de leucócitos abaixo do limite mínimo é chamado de leucopenia, e pode indicar depressão da medula óssea, infecções virais ou reações tóxicas (Thrall et al., 2007).

Jain (1993) descreveu que as contagens total e diferencial variam com a espécie animal e são influenciadas pela idade, sendo que são altas ao nascimento e diminuem gradualmente, para atingir valores adultos aos 2 a 12 meses de idade. Almeida e Silva (1995) salientaram as alterações em relação à idade e ao sexo, em que os machos jovens apresentaram uma maior contagem diferencial absoluta de linfócitos, neutrófilos e bastonetes. Da mesma forma, McFarlane et al. (1998) relataram que equinos geriátricos apresentaram índices significativamente menores de linfócitos. Mesmo quando a diferença etária não é tão exacerbada, há alterações significativas em contagens leucocitárias e linfocitárias de equinos mais velhos (Smith et al., 2002). Segundo Kaneko et al. (1997) e Thrall et al. (2007), a linfopenia ocorre principalmente por

linfólise das células T, sensíveis aos corticosteróides e por marginação ou sequestro dos linfócitos em locais extravasculares.

Segundo Meyer e Harvey (1998), a contagem leucocitária normal em equinos é de  $5,2-13,9 \times 10^3/\mu\text{L}$ . No estudo conduzido por Faglari e Silva (2002), os resultados obtidos foram de  $8,8-14,0 \times 10^3/\mu\text{L}$ .

### 2.10.2. Bioquímica sanguínea

A composição bioquímica sanguínea reflete com precisão a situação metabólica dos tecidos animais, podendo-se avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais, fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos (González e Scheffer, 2002).

#### 2.10.2.1 Proteínas totais (PT)

Proteínas Totais compreendem todas as proteínas do sangue (séricas e plasmáticas). As proteínas plasmáticas totais compõem o sangue (plasma), estando incluídas a albumina e as globulinas, alfa, beta e gama. Todas estas proteínas são sintetizadas no fígado, com exceção da fração gama das globulinas, cuja síntese depende do sistema monocítico fagocitário. As proteínas são as substâncias orgânicas que desempenham o maior número de funções no organismo animal. Sofrem alterações de importância clínica, principalmente nos processos inflamatórios (bacterianos e imunológicos), parasitários e metabólicos (Thrall et al., 2007). O aumento das proteínas plasmáticas totais ocorre na desidratação, devido à perda de líquido, e na estimulação da resposta imune (vacinação, doenças auto-imunes e inflamação crônica). A diminuição (hipoproteinemia) ocorre, quase sempre, devido à diminuição da albumina, nos casos de hepatopatias e nefropatias avançadas, enterites crônicas, hemorragias graves (Campelo, 2008).

Faglari et al. (2008) ressaltam que após laparotomia em equinos é importante a realização do proteinograma sérico, no monitoramento e na identificação de focos infecciosos decorrentes de procedimentos cirúrgicos.

De Vega et al. (2002) afirmaram que os valores referenciais da bioquímica sanguínea, entre eles o perfil protéico, permitem avaliar o funcionamento do organismo, o estado nutricional, existência de enfermidades renais, hepáticas além da ocorrência de outros tipos de distúrbios. Di Filippo et al. (2012) relataram que, normalmente, o proteinograma compõe-se das dosagens de proteínas totais, albumina, globulinas e, análise mais detalhada das frações globulínicas. Relatou ainda que as globulinas são obtidas entre a diferença das proteínas totais e albumina e que os desdobramentos de suas frações podem ser obtidos por meio de eletroforese. Gonzáles et al. (2003) registraram que a deficiência relativa de água provoca aumento dos teores de proteínas e em algumas doenças inflamatórias crônicas e na paraproteinemia. Entretanto, a redução pode estar associada à super-hidratação, perda excessiva renal ou intestinal, hemorragias e diminuição da síntese protéica. Usaquen e Farias (2009) relataram que hipoalbuminemias ocorrem em lesões renais, digestivas, hepáticas e queimaduras graves. No entanto, as hiperalbuminemias são decorrentes de quadros secundários às desidratações graves e patologias de cunho hereditário.

O fracionamento eletroforético é um dos mais confiáveis métodos de identificação de proteínas séricas. As técnicas de eletroforese mais utilizadas em medicina veterinária têm como matrizes fitas de acetato de celulose ou filmes de agarose (Faglari et al., 2008). O proteinograma é um método diagnóstico importante pois pode sugerir, ser indicativo, de processos inflamatórios agudos ou crônicos, perdas protéicas, disfunção hepática, melhor entendimento da resposta imunológica dentre outros (Eckersall, 2008).

Segundo Kaneko (1997), os valores fisiológicos dos equinos apresentam os seguintes intervalos de variação: Proteínas totais - 5,2 a 7,9 g/dL; albumina - 2,6 a 3,7 g/dL e globulinas - 2,62 a 4,04 g/dL.

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, perfazendo cerca de 50% do total de proteínas. É sintetizada no fígado e contribui com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo, também, uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e

bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion (Kaneko, 1997 e Thrall et al., 2007).

Kaneko et al. (1997) afirmaram que o aumento de albumina plasmática (hiperalbuminemia) pode ser devido a desidratação. Entretanto, a concentração da albumina plasmática pode diminuir (hipoalbuminemia) em várias situações como, dano hepático crônico, déficit alimentar de fontes protéicas, parasitismos, devido à perda de proteínas pelo intestino, doença renal catabolismo aumentado da albumina como consequência de déficit energético, o que estimula a mobilização de reservas de aminoácidos para entrarem na via da gliconeogênese e extravasamento do sistema vascular (hemorragias).

Globulinas são proteínas que migram conjuntamente em campos elétricos por meio da eletroforese em fitas de acetato de celulose ou gel de agarose constituindo famílias, divididas em alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e gama ( $\gamma$ ) de acordo com seu tamanho e carga elétrica. As proteínas são em geral negativas, sendo a albumina fortemente negativa e as globulinas fracamente negativas.

As principais globulinas são: Alfa ( $\alpha$ ), composta pela antitripsina, que inibe a tripsina; HDL (lipoproteína de alta densidade), VLDL e LDL (lipoproteína de baixa densidade), todas transportam lipídios;  $\alpha$ 2-macroglobulina que se liga à insulina; eritropoetina, que estimula a eritropoese e a trombopoese; ceruloplasmina, transportadora do cobre; e haptoglobina, que se liga à hemoglobina livre. Beta ( $\beta$ ), composto pela transferrina, que transporta o ferro; hemopexina, que se liga ao heme (da hemoglobina); C3 e C4, fatores do sistema complemento; plasminogênio, componente da fibrinólise; e o fibrinogênio, participante da coagulação e processos inflamatórios. Gama ( $\gamma$ ), também chamada de imunoglobulinas, composta por suas frações (IgG, IgA, IgM e IgG) ou seja, os anticorpos. Seu aumento está associado a distúrbios inflamatórios que demandam resposta humoral (Thrall et al., 2007).

A proporção albumina em relação à globulina (A/G) constitui-se geralmente na primeira indicação de uma anormalidade protéica. Esta relação permanece dentro de valores normais em casos de desidratação (aumento na concentração de ambas as

frações) ou hemorragias e hiperhidratação, em que se vê hipoalbuminemia e hipoglobulinemia (Thrall et al., 2007).

A relação albumina:globulinas (A/G) adquire importância na presença de infecções, quando ela se altera, invertendo-se os valores, pelo aumento que ocorre na concentração das imunoglobulinas, especialmente as gamaglobulinas. A inversão sugere a ocorrência de processos inflamatórios agudos e crônicos, disfunções hepáticas, perdas protéicas, síndromes nefróticas e outras alterações que ajudam no entendimento da resposta imunológica. Assim, o proteinograma representa um importante auxílio ao diagnóstico e prognóstico clínico, além de monitorar a resposta do organismo à terapia (Kaneko et al., 1997).

A dosagem de proteína complementa o eritrograma e é muito importante a análise destes dois parâmetros para o estudo de alterações fisiológicas. É de primordial importância na avaliação do estado nutricional, podendo indicar alterações metabólicas e auxiliar no diagnóstico clínico de enfermidades (Tennant, 1997).

Saqueti et al. (2008) consideram as mais importantes proteínas de fase aguda para a espécie equina, o fibrinogênio, a amiloide-A, a glicoproteína ácida  $\alpha_1$ , a proteína C-reativa, a haptoglobina e a ceruloplasmina.

O perfil eletroforético pode indicar a ocorrência de processos inflamatórios agudos e crônicos, disfunções hepáticas, perdas proteicas, síndromes nefróticas e alterações das globulinas que ajudam o estudo da resposta imunológica (Thrall et al., 2007). Kaneko et al. (1997) relatam que o fracionamento eletroforético representa um dos mais confiáveis métodos de identificação e quantificação das proteínas dos fluidos corporais.

A proteína total, dosada no soro ou plasma, é especialmente útil na detecção das infecções crônicas. Nos equinos, as proteínas podem ser fracionadas em albumina,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e gamaglobulinas (Campelo, 2008).

#### 2.10.2.2. Aspartato aminotransferase

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima citoplasmática e mitocondrial, encontrada no fígado, músculos esquelético e cardíaco (Tennant, 1997; Frapé, 1998). Em todas as espécies domésticas, a atividade da AST é alta no fígado, portanto, em lesões agudas ou crônicas do fígado, a atividade de AST estará elevada (Tennant, 1997). Mas, como a AST também é encontrada no músculo esquelético, essa enzima também tem sido usada como auxílio diagnóstico em lesões musculares dos animais (Cardinet, 1997). Os equinos podem apresentar um aumento nos valores de AST em consequência da miopatia ou lesão hepática (Stockham, 1995).

#### 2.10.2.3 Alanina aminotransferase (ALT)

ALT é encontrada no plasma e em vários tecidos corpóreos, incluindo os músculos, mas é frequentemente associada ao fígado. Estas enzimas são liberadas no sangue em grandes quantidades quando há dano à membrana do hepatócito, resultando em aumento da permeabilidade. Há baixa correlação entre o grau de lesão hepatocelular e o nível das aminotransferases. Assim, a elevação absoluta das aminotransferases tem grande significado diagnóstico e não prognóstico, nas hepatopatias agudas. A quantificação de ALT geralmente é feita junto com outros testes que verificam danos no fígado, incluindo aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina e GGT. Ambos os níveis de ALT e AST são testes confiáveis para o fígado. ALT e AST são indicadores sensíveis de dano hepático em diferentes tipos de patologias. Mas deve ser enfatizado que ter níveis mais altos que o normal destas enzimas não indica, necessariamente, uma doença hepática estabelecida. Tais índices podem indicar algum transtorno hepático, ou não e deve ser seguido de mais parâmetros (Thrall et al., 2007).

#### 2.10.2.4. Gama-glutamil transferase (GGT)

A gama-glutamil transferase (GGT) é uma enzima de membrana, presente no fígado, rins, pâncreas e intestino (Meyer et al., 1995 e Tennant, 1997). Todavia, grandes quantidades de GGT estão presentes nas células tubulares renais e no epitélio dos ductos biliares (Kramer & Hoffmann, 1997). Ressalta-se que sua atividade é relativamente alta no fígado de equinos (Meyer et al., 1995). Em equinos, a colestase

causa aumento na atividade sérica da GGT, com melhor utilidade diagnóstica que a fosfatase alcalina (FA) (Meyer et al., 1995). Portanto, mesmo que a GGT esteja presente em muitos tecidos, elevações séricas são observadas primariamente em desordens hepáticas (Kaneko et al., 1997).

#### 2.10.2.5. Fosfatase alcalina (FA)

A fosfatase alcalina (FA) está presente nos intestinos, rins, fígado, ossos, placenta e mucosa intestinal. Apenas as isoenzimas produzidas pelo fígado e ossos, ou em respostas aos corticosteróides, possuem meias-vidas séricas longas o suficiente para torná-las clinicamente detectáveis. Esse grupo de isoenzimas é responsável pela hidrólise de fosfato em pH alcalino. Havendo ou não um método disponível para diferenciar as isoenzimas da FA, a interpretação das concentrações dessa enzima, juntamente com demais dados básicos do paciente, muitas vezes ajuda a esclarecer a situação clínica (Thrall et al., 2007).

O aumento da FA de origem óssea ocorre em animais jovens, durante a consolidação de fraturas, hiperparatireoidismo, osteossarcomas, osteomalácia ou na deficiência de vitamina D (Kaneko et al., 1997).

É uma enzima de pouca importância em patologias hepáticas em equinos e ruminantes uma vez que possui amplos intervalos normais de concentrações nestas espécies (González et al., 2006).

#### 2.10.2.6. Uréia e Creatinina

A uréia é sintetizada no fígado, a partir de amônia, a qual é muito tóxica. É por esta razão que cavalos com falência hepática podem morrer devido à intoxicação por amônia e ter baixa concentração de uréia. A presença da uréia no sangue é denominada uremia e designa-se azotemia qualquer aumento de compostos nitrogenados não protéicos no sangue, principalmente uréia, creatinina e amônia (Kaneko et al., 1997). Sabe-se que a uréia é um produto final da excreção renal dos compostos nitrogenados pelos animais ureotélicos. Ocorre elevação da concentração plasmática de uréia quando há insuficiência renal.

A creatinina, assim como a uréia, é um produto da degradação nitrogenada, mas não é um produto da quebra de aminoácidos e sim da quebra de creatina, substância presente no músculo e que está envolvida no metabolismo energético, particularmente na estabilização de ligações de fosfato de alta energia usadas como reservas (Thrall et al., 2007). Sabe-se que a creatinina é um produto endógeno do catabolismo muscular cuja concentração plasmática não se altera com a dieta, enquanto a uréia constitui um metabólito resultante final do catabolismo protéico em nível hepático, cuja concentração pode ser alterada pela quantidade de proteína em alimentos e pela hipovolemia (Kaneko et al., 1997).

Aumentos das concentrações séricas da uréia e creatinina podem ser reflexos da azotemia oriunda de fatores pré-renais como desidratação ou exercício. O aumento da concentração sanguínea de creatinina também pode indicar alteração renal com diminuição da taxa de filtração. Ao contrário da uréia, a creatinina não sofre reabsorção. Devido a esse fato a sua depuração endógena é utilizada como índice de filtração glomerular (Silveira (1988). Duncan et al. (1994) afirmaram que as elevações de uréia no soro são indicativos de hiperazotemia ou uremia, que pode ter causas renais, pré e pós-renais. A redução dos valores de uréia pode ser indicativa de insuficiência hepática ou de processo infeccioso grave.

Matrone et al. (2007) realizando estudo em oito animais Puro Sangue Inglês, machos e fêmeas, de diferentes idades, descreveram valores médios de uréia de 39,0mg/dl.

Campelo (2008) trabalhando com éguas bretãs e brasileiras de hipismo relatou que o excesso de proteína na dieta não pode ser totalmente utilizado pelo animal, conseqüentemente o excedente é convertido em amônia, a qual devido a sua alta toxicidade, é rapidamente convertida em uréia no fígado e excretada em sua maior parte na urina. Contudo, quantidades apreciáveis de uréia aparecem no sangue e no leite, fluidos nos quais pode medir-se de forma confiável, uma vez que a uréia sanguínea passa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite.

A concentração de uréia aumentada pode ser decorrente do aumento do consumo dietético de proteína, colapso metabólico ou hemorragia no interior do trato

gastrointestinal. A creatinina é uma substância nitrogenada não protéica formada durante o metabolismo muscular da creatina e fosfocreatina. A creatinina é excretada pela filtração glomerular e não há excreção ou reabsorção tubular em quantidades significativas (Thrall et al., 2007).

#### 2.10.2.7. Cálcio / Fósforo

Sabe-se que o Ca é mantido em equilíbrio com o P no sangue por meio da ação do paratormônio, que atua fundamentalmente nos ossos, rins e nos intestinos, em uma ação conjunta com a vitamina D (Mundim, 2004). A ação do paratormônio nos rins é capaz de promover aumento da reabsorção do Ca e redução na reabsorção de fosfatos. Nos ossos, ele estimula a reabsorção, elevando os níveis séricos do Ca e de fosfatos. Esse hormônio também é responsável por um estímulo na formação do 1,25 dihidroxicalciferol, que tem atuação direta, aumentando a eficiência na absorção do Ca (Thrall et al., 2007). Silveira (1988) e Hintz et al. (1993) relataram que a eficiência na absorção do Ca dietético é dependente da sua necessidade ou da sua exigência pelo animal. Na medida em que aumenta sua exigência, aumenta também a eficiência na sua absorção. Mundim (2004) acredita que desequilíbrios do Ca e do P na dieta podem resultar em alterações dos níveis séricos desses minerais e que a persistência dessa condição poderia induzir a graves problemas metabólicos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Estudar os perfis hematológico e bioquímicos séricos de éguas Quarto de Milha alimentadas a base de *haylage* de Tifton-85 com 70% MS e feno de Tifton-85, bem como pesquisar a contaminação a campo ou na armazenagem desta forrageira por micotoxinas pertinentes a legislação brasileira.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Pesquisar as micotoxinas aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona na *haylage* de Tifton-85;

- Avaliar o estado de saúde de éguas Quarto de Milha alimentadas durante um mês com forrageira Tifton-85 na forma de pré-secado (*haylage*) com 70% de MS, por meio do perfil hematológico completo e bioquímico (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina, creatinina, uréia, cálcio, fósforo e proteinograma fracionado).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal (CETEA) com o número de protocolo 55/2010.

O experimento foi realizado nas Fazendas ID e Pito Aceso, localizadas no município de Itaúna (MG) e é a segunda parte do projeto de digestibilidade do Tifton 85, intitulado “Utilização de haylage de Tifton-85 (*Cynodon* spp. na dieta de equinos”.

Os tratamentos avaliados consistiram de duas dietas compostas por concentrado e volumosos de Tifton-85 (*Cynodon* spp) conservados na forma de *haylage* e feno comum, ambas as dietas foram suplementadas com sal mineralizado.

A gramínea foi cortada com 30 dias de crescimento. Para produção da *haylage*, a forrageira permaneceu no campo até atingir 70% de MS, quando foi recolhida e o aditivo biológico Silobac® adicionado, conforme recomendações do fabricante, que consiste na diluição de 2 g do produto em 2 L de água para inocular cada tonelada de forragem destinada à ensilagem. O produto forneceu, por grama de forragem ensilada, *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus pentosaceus* (CHR HANSEN) nas concentrações de  $2,5 \times 10^5$  UFC para cada espécie de bactéria. Os fardos de fenos foram produzidos de acordo com o sistema adotado na própria fazenda, com o auxílio de maquinário de escala industrial. Aproximadamente 1,3 kg de massa verde da forragem, foram acondicionados em sacos de polietileno (40 x 60 cm) para produção das *haylages*. Em seguida, os sacos foram selados após retirada do ar com máquina de vácuo, segundo técnica preconizada por Kung Jr. et al. (2010). O concentrado foi formulado e produzido na própria fazenda.

Para verificar possível desenvolvimento de fungos e produção de micotoxinas, foi realizada a inspeção visual do feno e *haylage* de tifton-85 em cada tempo de abertura e realizada pesquisa de micotoxinas.

Foram utilizados *kits* Veratox (*Neogen Corporation*) para quantificação das concentrações de aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona e leitura realizada em espectrofotômetro (leitor ELISA a 650 nm). Esta análise foi realizada na planta

imediatamente após o corte e na *haylage* com 56 dias após sua produção, no Laboratório de Toxicologia da Escola de Veterinária da UFMG.



Figura 3. Abertura do material: pré-secado de Tifton-85 (*Cynodon* spp)  
Fonte: Arquivo pessoal de Costa, 2012.

#### 4.1 Animais

Foram utilizadas 12 éguas da raça Quarto de Milha com idade variando entre 8 a 12 anos com peso vivo médio de 451,58 kg no início do experimento.

Antes de iniciarem os ensaios, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (n=6) que consistiram os tratamentos experimentais, os quais diferiram pela oferta de volumoso (feno ou *haylage*). O grupo 1 (GRUPO FENO) teve a dieta composta por feno de Tifton-85 e concentrado, o grupo 2 (GRUPO HAYLAGE) foi alimentado com *haylage* de Tifton-85 e concentrado.



Figura 4. Animais utilizados no experimento

(Fonte: Arquivo pessoal de Costa, 2012)

Tabela 4. Composição do sal mineral

Ingredientes	Níveis de garantia/kg do produto
Cálcio (mínimo)	175 g
Cálcio (máximo)	210 g
Sódio (mínimo)	120 g
Fósforo (mínimo)	60 g
Potássio (mínimo)	20 g
Magnésio (mínimo)	13,6 g
Enxofre (mínimo)	12,0 g
Zinco (mínimo)	2.200 mg
Ferro (mínimo)	2.000 mg
Cobre (mínimo)	1.200 mg
Manganês (mínimo)	970 mg
Flúor (máximo)	600 mg
Iodo (mínimo)	125 mg
Cobalto (mínimo)	21 mg
Selênio (mínimo)	10 mg
Palatabilizante	500 mg

Fontes dos minerais: Fosfato bicálcico, carbonato de cálcio, cloreto de sódio (sal comum), cloreto de potássio, óxido de magnésio, enxofre ventilado (flor de enxofre), premix micromineral, transquelatado e palatabilizante.

Fabricante: Tortuga Companhia Zootécnica Agrária.

Adaptado de Costa (2012)

Tabela 5. Composição da dieta fornecida aos animais do experimento

Item	Dieta (concentrado + volumoso)	
	Feno	Haylage
Matéria seca (%)	94,54	94,71
Matéria orgânica <sup>1</sup>	91,20	90,85
Matéria mineral <sup>1</sup>	8,80	9,15
Proteína bruta <sup>1</sup>	11,44	12,71
Fibra em detergente neutro <sup>1</sup>	55,16	54,77
Fibra em detergente ácido <sup>1</sup>	20,41	22,48
Hemiceluloses <sup>1</sup>	34,74	32,29
Energia bruta (Mcal/ kg)	4,72	4,85

<sup>1</sup> Dados com base na matéria seca  
 Fonte: Costa (2012)

Tabela 6. Composição química da haylage de tifton-85 (*Cynodon* spp.) em diferentes tempos de abertura

Item	Tempo de Amostragem (dias)						
	0	1	3	7	14	28	56
MS	26,78	71,70	71,98	73,20	70,62	70,45	72,28
DIVMS Rúmen (%)	79,22	79,36	77,75	78,84	78,58	78,43	78,53
DIVMS Cólon (%)	38,01	38,42	37,51	36,98	35,00	37,18	36,05
PB (%)	17,63	19,06	18,91	19,65	17,18	17,09	17,71
% N-NH <sub>3</sub> /N total	0,39	0,41	0,67	0,73	1,04	1,24	1,10
Ph	5,48	6,08	5,19	5,53	5,37	5,42	5,21
FDN (%)	74,16	74,31	72,23	74,26	73,21	73,24	73,33
FDA (%)	32,33	31,03	31,58	31,87	32,15	31,31	31,96
HEM (%)	41,83	43,27	40,64	42,38	41,56	40,93	41,37
LIG (%)	3,28	3,56	3,36	3,59	3,79	3,56	3,39
Ac. Acético (g/kg MS)	0,91	1,17	0,60	2,02	2,14	1,85	2,79
Ac. Propionico (g/kg MS)	0,27	0,10	0,03	0,11	0,08	0,10	0,08
Ac. Butírico (g/kg MS)	0,77	0,70	0,18	0,36	0,42	0,23	0,20
Ac. Láctico (g/kg MS)	2,26	0,35	3,01	10,24	11,44	16,16	26,06

Fonte: Costa (2012)

Durante o período experimental os animais foram mantidos em baias individuais com dimensões de 9 m<sup>2</sup>. As baias foram forradas com cama de palha de arroz, mantidas limpas e trocadas semanalmente. A limpeza dos cochos de água das baias foi feita duas vezes ao dia, pela manhã e a tarde. Diariamente, durante uma hora os animais foram soltos em curral com piso cimentado, onde não tiveram acesso a nenhum alimento.

Semanalmente os animais foram pesados para cálculo do fornecimento de volumoso e concentrado, sendo também feita a coleta do sangue.

Uma semana antes do início do experimento, as éguas foram desverminadas e banhadas com carrapaticida.

O fornecimento dos nutrientes da dieta foi calculado de acordo com indicação do *Nutrient...* (2007) para animais em manutenção. Desta forma, adequar-se as exigências nutricionais às dietas compostas por concentrado e volumoso. O volumoso foi fracionado em três refeições diárias, nos horários de 7, 13 e 17 horas; enquanto que o concentrado diário foi fornecido em duas refeições, as 9 e 15 horas. Antes do oferecimento, as *haylages* foram abertas, para inspeção visual a fim de verificar a ocorrência de bolores.

#### 4.2 Coletas de sangue

As coletas de sangue foram realizadas semanalmente, durante 28 dias, antes do fornecimentos diário das dietas, totalizando cinco coletas por animal.

Foram coletados 10 mL de sangue através de punção da veia jugular com agulha para coleta à vácuo e destes, 5mL foram acondicionados em tubos à vácuo com EDTA a 10% para a realização do hemograma e os outros 5mL acondicionados em tubos sem anticoagulante para produção de soro e realização do perfil bioquímico.

Após a realização do hemograma, as amostras foram centrifugadas (3.000 rotações por minuto por 10 minutos) para obtenção de plasma e soro sanguíneo, que foram aliqüotadas em tubos de polipropileno -20°C, para posteriores análises.

Os esfregaços foram confeccionados após a coleta, corados com Panótico, acondicionados em caixas porta lâminas, devidamente identificados.

A primeira coleta de sangue foi realizada no tempo zero (T0) e as coletas subsequentes foram obtidas a cada sete dias após a administração de *haylage*: 7 (T1), 14 (T2), 21 (T3) e 28 (T4), totalizando cinco coletas por animal.

#### 4.3. Exames laboratoriais

As amostras de sangue com EDTA a 10% foram destinadas às análises do hemograma (contagem de eritrócitos e leucócitos) realizado em contador eletrônico (Celm<sup>®</sup>). Os esfregaços sanguíneos, em lâminas de vidro e corados com Panótico foram utilizados para contagem diferencial de leucócitos de acordo com Thrall et al. (2007). O volume globular (VG) foi determinado através do método do microhematócrito.

As dosagens de AST, ALT, GGT, FA, creatinina, uréia, Ca e P foram efetuadas por meio de processos cinético e colorimétrico, em analisador semi-automático (*TP Analyser*<sup>®</sup>), utilizando-se *kits* comerciais da Bioclin<sup>®</sup>, no Laboratório de Toxicologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG.

A concentração de proteínas totais foi estimada por refratometria, e o perfil protéico fracionado foi obtido por eletroforese horizontal em gel de agarose a 12% e tampão TRIS, utilizando as amostras de plasma congeladas. Os géis foram corados com amido negro e descorados em uma série de etanol e ácido acético, com corrida do gel em 35 minutos. A leitura foi feita por um scanner com *software* Celm CE - 250. A concentração protéica (g/dL) foi determinada através da multiplicação do percentual de cada fração obtida pela concentração da proteína total.

#### 4.4. Análises estatísticas

O delineamento experimental foi totalmente casualizado, conforme preconiza Sampaio (2007), em arranjo de parcelas subdivididas (sendo a parcela os GRUPOS aleatoriamente distribuídos e a subparcela os MOMENTOS de coleta sanguínea após o fornecimento da dieta, com seis repetições (ANIMAIS)).

Foi feito o teste de normalidade e pela natureza das variáveis utilizaram-se os seguintes testes:

- Para as variáveis bastonetes, basófilos, monócitos, ureia, cálcio e fosfatase alcalina, foram analisadas por teste não paramétricos, Mann-Whitney para comparar os GRUPOS e Friedman para comparar os MOMENTOS, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

- As demais variáveis foram analisadas por ANOVA com teste de Tukey com nível de significância de  $p < 0,05$ .

- As variáveis leucócitos, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos, eritrócitos, CHGM, AST, ALT, GGT e creatinina foram transformadas por  $\log^{10}(x+1)$  para normalização.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Concentração de Micotoxinas

A verificação do crescimento de fungos foi realizada por meio de inspeção visual do material em cada tempo de abertura, quanto à integridade e inocuidade da forrageira, não sendo detectada a presença de bolores.

Foram pesquisadas e quantificadas aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona na *haylage*, sendo estas as micotoxinas mais expressivas nas forrageiras adaptadas às condições de clima brasileiro. Foram detectadas  $0,60 \text{ mg.kg}^{-1}$  de fumonisina (0,60 ppm),  $0,71 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$  de zearalenona (71 ppb) e  $0,95 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$  de aflatoxina (0,95 ppb) (Tabela 7), segundo dados de Costa, 2012.

Tabela 7. Concentrações das micotoxinas encontradas no capim Tifton-85 e na *haylage* e os níveis de tolerância

Micotoxinas	Material analisado		Níveis de tolerância dos equinos
	Planta	Haylage (56 dias)	
Aflatoxinas	0,95 $\mu\text{g/kg}$	0,95 $\mu\text{g/kg}$	20 $\mu\text{g/kg}$
Fumonisinas	0,60 $\text{mg/kg}$	0,60 $\text{mg/kg}$	5 $\text{mg/kg}$
Zearalenona	0,71 $\mu\text{g/kg}$	0,71 $\mu\text{g/kg}$	-

\*Neogen Corporation

Fonte: Adaptado de Costa (2012)

As concentrações de micotoxinas foram iguais entre planta e *haylages* produzidas, o que demonstra que as condições nas quais as *haylages* foram produzidas não proporcionaram o desenvolvimento de fungos, confirmando as afirmações de Alfonzo et al. (2011a) que a pré-secagem do capim tifton 85 e a adoção de períodos de fermentação superiores à 28 dias melhoram as características microbiológicas da silagem obtida.

Como a legislação vigente, tanto internacional quanto nacional, possuem limites de concentração máxima permitida especificada por alimentos e constituintes de rações, observa-se que a concentração máxima de fumonisinas e aflatoxinas ficaram

abaixo dos valores permitidos:  $< 5\text{mg.kg}^{-1}$  de fumonisina (5 ppm) e  $20\ \mu\text{g.kg}^{-1}$  de aflatoxinas (0,02 ppm) conforme Domingues (2009) e Knowmicotoxins (2014).

Apesar de não especificadas na literatura as concentrações de zearalenona para equinos, considerou-se os níveis encontrados na presente pesquisa como não tóxicos para equinos, pois Mallmann et al. (1999) ao avaliarem os efeitos de dieta contaminada com zearalenona para equinos, verificaram que o fornecimento de 0,7 mg/kg de zearalenona não causou qualquer efeito metabólico nos animais testados.

Segundo Dilkin e Mallmann (2004), as micotoxinas podem causar alterações patológicas graves como, alteração do tempo de coagulação sanguínea, hemorragia em massas musculares, sangue nas fezes decorrentes de hemorragias gastrointestinais e até mesmo hemorragias encefálicas no caso de intoxicações por fumonisinas.

## **5.2. Avaliações físicas**

As éguas utilizadas neste estudo, após o fornecimento de *haylage* de Tifton-85, apresentaram-se clinicamente saudáveis, após exame semiológico, sem alterações na temperatura corporal e nos parâmetros cardíacos e respiratórios, bem como de seu comportamento, conforme constante no trabalho de Costa (2012).

## **5.3. Análises Laboratoriais**

Objetivando-se melhor entendimento dos resultados, esses serão apresentados na forma de tabelas e gráficos, levando em consideração o tempo de coleta sanguínea durante o fornecimento da dieta (cinco coletas totais – T0 a T4) e o comportamento de cada variável ao longo de todo o processo nos dois grupos de animais.

Tabela 8 . Valores médios e Coeficiente de Variação do número de Eritrócitos/ $\mu\text{L}$  (hemácias), hemoglobina g/dL, VG %, VGM  $\mu^3$ , HGM pg e CHGM % de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

VARIÁVEIS						
Tempo	Hemácias ( $\mu\text{L}$ )		Hemoglobina (g/dL)		VG (g/dl)	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
T0	9498333,33 Aa	9878333,33 Aa (14,80)	12,52 Aa	12,85 Aa (9,41)	29,00 Ba	31,00 Ba (9,21)
T1	10920000,00 Aa	9261666,67 Aa (31,99)	10,87 Ba	11,97 Aa (7,12)	31,00 ABb	34,83 Aba (7,71)
T2	9473333,33 Aa	9850000,00 Aa (22,51)	11,55 ABa	11,48 Aa (14,62)	29,00 Ba	31,33 Ba (13,55)
T3	8213333,33 Aa	8185000,00 Aa (17,33)	11,13 ABa	11,53 Aa (7,87)	34,00 Aa	35,50 Aa (8,60)
T4	8021666,67 Aa	8306666,67 Aa (13,91)	11,77 ABa	12,07 Aa (13,10)	34,50 Aa	36,50 Aa (10,91)

Tempo	VGM ( $\mu^3$ )		CHGM (%)		HGM (pg)	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
T0	30,66 Ba	32,45 Ba (16,86)	43,33 Aa	41,48 Aa (8,44)	13,20 ABa	13,34 Aa (12,98)
T1	31,57 Ba	39,19 Aba (28,18)	35,02 Ba	34,47 BCa(6,04)	10,98 Ba	13,45 Aa (26,75)
T2	31,03 Bb	33,24 Ba (17,54)	39,82 Aa	36,65 B (7,81)	12,36 ABa	12,25 Aa (19,28)
T3	41,51 Aa	44,83 Aa (14,55)	32,76 Ba	32,55 C (4,04)	13,59 ABa	14,52 Aa (12,65)
T4	43,13 Aa	44,41 Aa (8,32)	33,99 Ba	33,04 C (5,00)	14,64 Aa	14,64 Aa (7,22)

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos de coleta (coluna) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas), submetidas ao teste Tukey, com  $P < 0,05$ .

### 5.3.1. Hematologia

#### 5.3.1.1 Contagem de eritrócitos

Neste estudo foi demonstrado que não houve alteração ( $P < 0,05$ ) no número de eritrócitos entre os animais do grupo 1 (GRUPO FENO) e animais do grupo 2 (GRUPO HAYLAGE) e entre tempos estudados (Tabela 8), variando entre  $8,02$  a  $10,92 \times 10^6 / \mu\text{l}$ .

Os valores para eritrócitos encontrados nesta pesquisa estão dentro dos limites de normalidade para em equinos  $9,0$  a  $14,0 \times 10^6 / \mu\text{l}$  (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988), exceto em ambos os grupos em T3 e T4 (Gráfico 1), mas sem prejuízos à saúde dos animais, uma vez que os animais estudados se recuperam posteriormente da diminuição na concentração de eritrócitos.

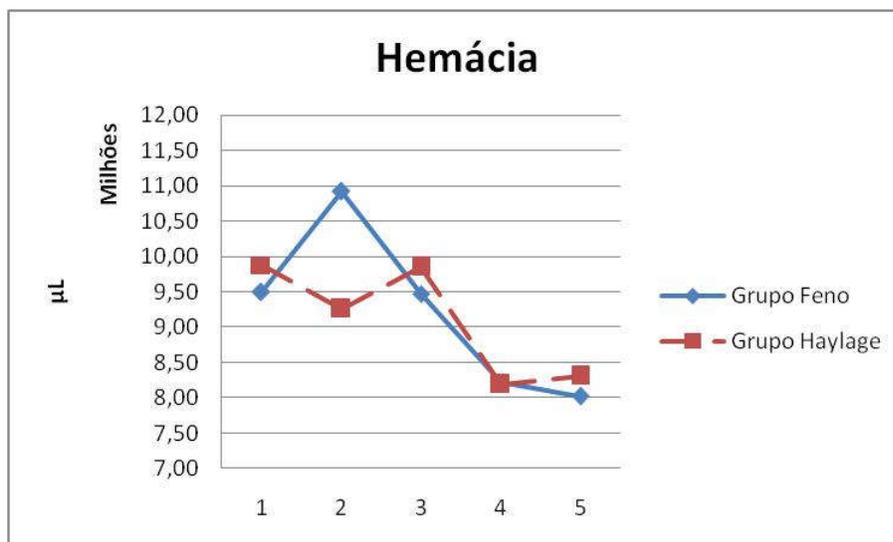


Gráfico 1. Comportamento da Contagem total de Eritrócitos/ $\mu\text{l}$  de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

#### 5.3.1.2. Concentração de hemoglobina

Os valores de hemoglobina no GRUPO FENO variaram entre  $12,52$  a  $10,87$  g/dL e no GRUPO HAYLAGE entre  $12,85$  a  $11,48$  g/dL.

Observa-se que nos animais do GRUPO FENO no T1 (sete dias após a administração do feno), houve uma diminuição ( $P < 0,05$ ) da concentração de

hemoglobina (Tabela 8), inclusive, discretamente abaixo do limite mínimo estabelecido (referência: 11,1 a 16,9 g/dL) conforme (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988). Apesar de o número de eritrócitos apresentar normal para a espécie, já se pode considerar uma discreta anemia, pois classicamente, a hemoglobina é o primeiro parâmetro que diminui. Este sinal de anemia pode ser decorrente de uma possível reação fisiológica a infecção por endoparasitas intestinais, que se encontra no fim pela desverminação aplicada aos animais antes do início do experimento.

Riet-Correia et al. (2001) e Fortes (2004) relataram que alterações hematológicas como anemia e leucitose associadas ou não à eosinofilia têm sido vistas como consequência do parasitismo intestinal em equinos.

Alguns animais podem apresentar infestações de forma assintomática, pois sempre haverá algum grau de infestação por parasitas, ressaltando que não necessariamente isto possa resultar em alterações clínicas ou prejuízo à saúde animal. Isso dependerá muito do grau de infestação e resistência do animal à infestação e ao tipo de endoparasita.

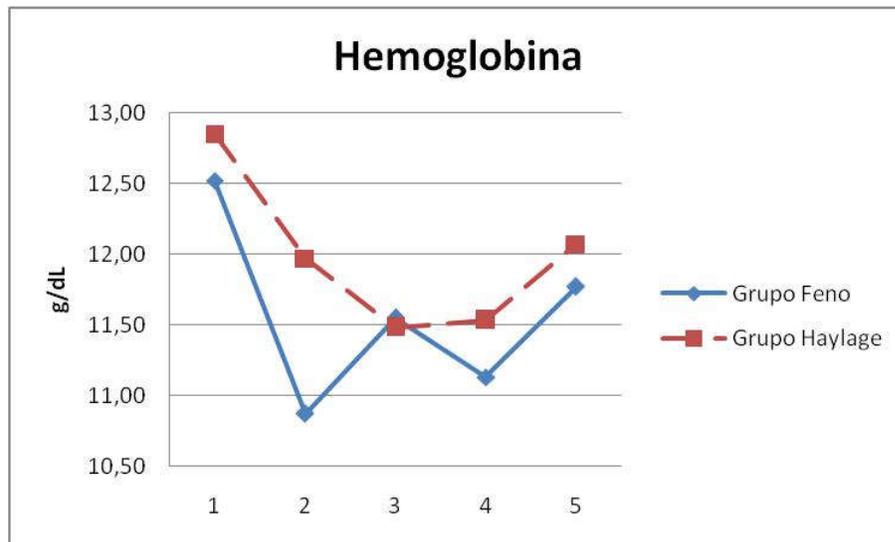


Gráfico 2. Comportamento da concentração de Hemoglobina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Quando se avalia o comportamento da hemoglobina (Gráfico 2), observa-se uma diminuição tanto no grupo que recebeu *haylage* de Tifton-85 quanto no grupo que recebeu feno de Tifton-85 até o T3, com tendência de recuperação 28 dias após.

No primeiro estágio da anemia ferropriva ocorre depleção dos estoques de ferro metabolicamente inativos. Tendo em vista que, a ferritina junto da hemossiderina, são o maior compartimento de armazenamento (fígado, medula; baço e outros), a dosagem da ferritina sérica reflete os estoques teciduais deste componente. Este estágio é chamado de depleção de estoque. No segundo estágio ocorre aumento da capacidade de ligação do ferro e diminuição do ferro sérico, juntamente com diminuição do índice de saturação da ferritina constituindo numa eritropoiese deficiente. Na persistência do balanço negativo de ferro, ocorre interferência no processo de hemoglobinizacão das hemácias levando a uma diminuição da dosagem de hemoglobina e conseqüentemente do VCM. Este é o terceiro estágio, chamado de anemia ferropriva (Thrall et al., 2007).

### **5.3.1.3. Volume Globular**

No GRUPO FENO (feno), em todos os tempos, os valores do VG apresentaram discretamente abaixo do limite mínimo estabelecido para a espécie (35 a 47%), segundo (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988). Em relação ao GRUPO HAYLAGE (*haylage*), nos tempos T0, T1 e T2, estes valores estão abaixo do limite mínimo (Tabela 8).

O volume globular representa a porcentagem do sangue total composta por eritrócitos. Existem situações, em que os valores podem estar diminuídos, especialmente quando ocorre perda sanguínea ou espoliação por endo e ectoparasitos (Thrall et al., 2007). Deve ser destacado que os animais foram desverminados e banhados com soluções carrapaticidas, mas podem estar apresentando um quadro final de recuperação por infestação por endoparasitas, uma vez que animais estabulados tendem a possuir uma reinfestação de endoparasitas mais frequente (Jacomino et al., 2008). E, de forma positiva, tanto nos GRUPO FENO como no GRUPO HAYLAGE, na terceira e quarta semana após administração do Tifton-85 (feno ou *haylage*) houve

aumento do VG, indicando uma influência da boa nutrição sobre esta variável sanguínea (Gráfico 3).

As anemias, mesmo que discretas, são caracterizadas de acordo com os índices hematimétricos que serão apresentados a seguir.

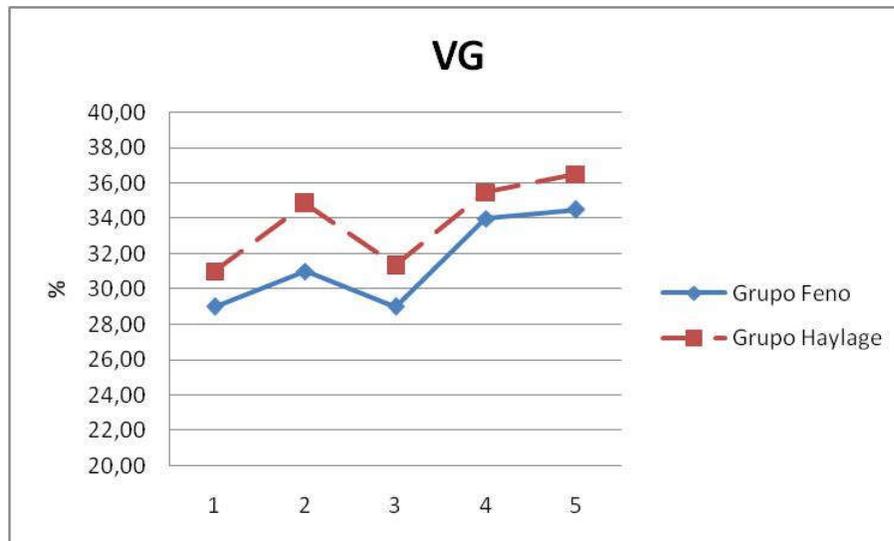


Gráfico 3. Comportamento da Concentração de VG g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

#### 5.3.1.4. Índices hematimétricos

De forma semelhante ao VG, no GRUPO FENO, nos três primeiros tempos (T0, T1 e T2), os valores do VGM apresentaram discretamente abaixo do limite mínimo estabelecido para a espécie (Tabela 8). Em relação ao GRUPO HAYLAGE, somente nos tempos T0 e T2, estes valores estão discretamente abaixo.

O VGM é o índice que revela o tamanho dos eritrócitos e no diagnóstico das anemias: se pequenas são consideradas microcíticas; se grandes consideradas macrocíticas e se são normais, normocíticas. Em equinos, o VGM situa-se entre 31 a 48  $\mu^3$  (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988), e considerando o VGM, as éguas do GRUPO FENO já na primeira coleta, observa-se discreta anemia do tipo normocítica

hipocrômica. Como já discutido anteriormente, isto pode ser uma discreta infestação por endoparasitas intestinais, uma vez que animais em baias possuem uma rápida reinfestação de endoparasitas (Jacomino et al., 2008) e alto índice de infecção quando estabulados (Inácio et al, 2013). Também deve ser ressaltado o aumento do VGM, após fornecimento da dieta, nos tempos T3 e T4 de ambos os grupos estudados, demonstrando uma boa composição nutricional da forrageira.

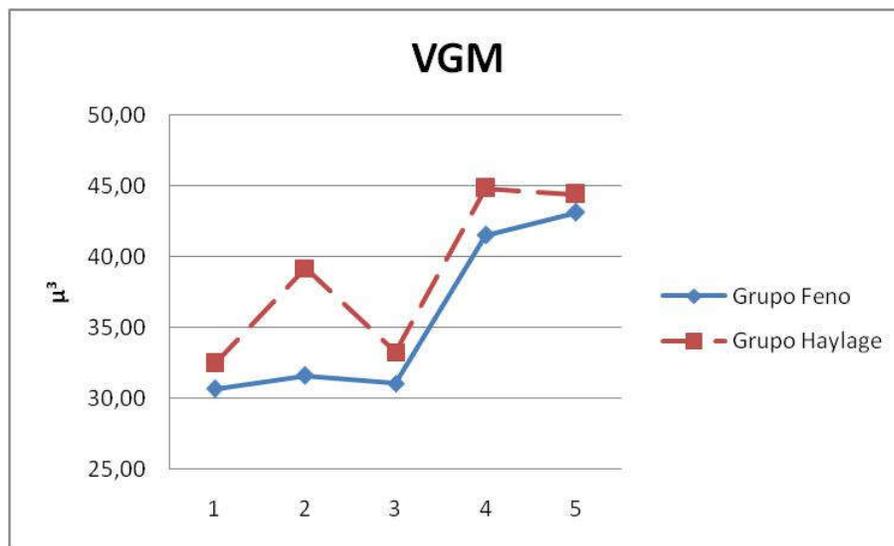


Gráfico 4. Comportamento dos valores médios de VGM  $\mu^3$  de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Os valores de hemoglobina globular média (HGM) do equino estão entre de 10 a 14,2 pg (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988) e refletem o peso da hemoglobina no eritrócitos. Os animais deste experimento apresentaram valores dentro dos limites de normalidade fisiológica. O menor valor médio observado ocorreu no GRUPO FENO, sete dias após consumo do mesmo (Tabela 8). Obviamente, estes mesmos resultados refletem a concentração de hemoglobina, já relatada anteriormente.

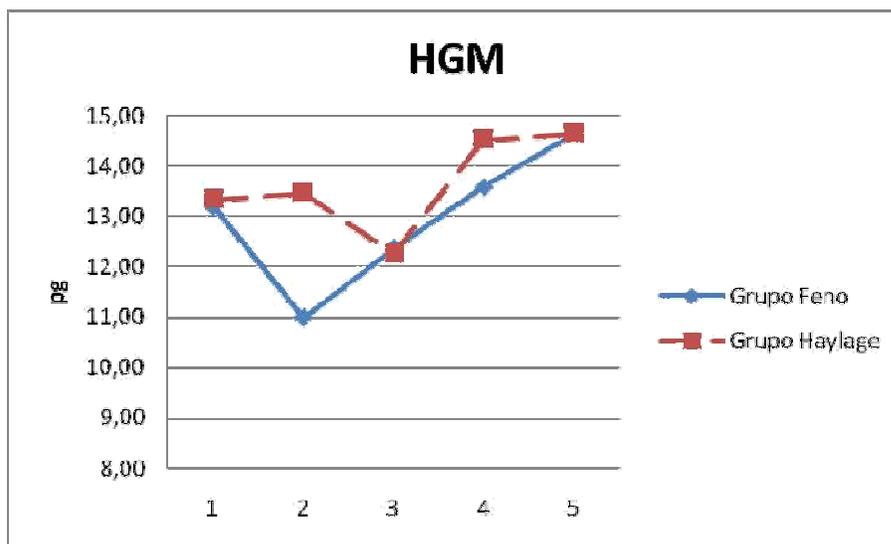


Gráfico 5. Comportamento dos valores médios de HGM pg de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

A concentração de hemoglobina globular média (CHGM) em equinos varia de 32 a 36%, segundo (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988) e representa a concentração da hemoglobina dentro de cada eritrócito. Conforme a concentração de hemoglobina, as anemias podem ser classificadas em hipocrômicas ou normocrômicas. Sendo assim, ao se analisar a Tabela 8, observam-se valores médios aumentados, especialmente no tempo zero (T0) de ambos os grupos (1 e 2), sem significado clínico, indicando um erro pré-analítico no hemograma automatizado. Algumas das causas de erro comum na dosagem de CHGM são as crioaglutininas, hemólise *in vitro*, microcitose extrema ou coágulos (Dalanhol et al., 2010).

Muitas vezes não existe correlação perfeita do CHGM com a hipocromia no esfregaço de sangue. Apesar de se encontrar diminuída na anemia ferropriva, utilidade no diagnóstico desta condição é pequena, já que a queda de CHGM nestes casos, ocorre mais tardiamente do que a queda de VGM (Jain et al., 1993).

Observando-se o gráfico 6, percebe-se que os dois grupos (feno e *haylage*) apresentaram o mesmo comportamento.

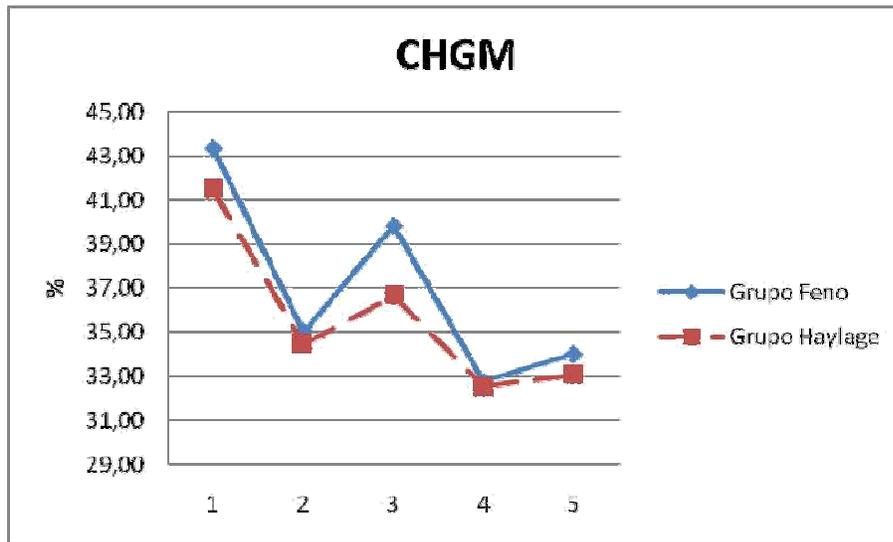


Gráfico 6. Comportamento dos Valores médios de CHGM % de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Tabela 9 . Valores médios e Coeficiente de Variação da Contagem total de Leucócitos/ $\mu\text{L}$ , linfócitos/ $\mu\text{L}$ , neutrófilos/ $\mu\text{L}$ , eosinófilos/ $\mu\text{L}$ , monócitos/ $\mu\text{L}$  e basófilos/ $\mu\text{L}$  de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

VARIÁVEIS						
Tempo	Leucócitos totais ( $\mu\text{L}$ )		Linfócitos ( $\mu\text{L}$ )		Neutrófilos ( $\mu\text{L}$ )	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
<b>T0</b>	11933,33 Aa	13566,67 Aa (22,76)	4928,17 Aa	5369,67 Aa (20,51)	5387,17 Aa	6282,67 Aa (32,38)
<b>T1</b>	9766,67 BCa	10466,67 Ba (16,95)	3468,67 Ba	3697,50 Ba (37,09)	5077,67 ABa	4874,67 Aa (24,18)
<b>T2</b>	10583,33 Aba	11233,33 Ba (21,33)	4301,67 ABa	4116,83 ABa (33,21)	4966,50 ABa	5622,83 Aa (37,88)
<b>T3</b>	8783,33 Ca	9666,67 BCa (21,94)	4000,00 ABa	5571,00 Aa (31,97)	3568,33 Ba	3103,17 Ba (25,83)
<b>T4</b>	8716,67 Ca	9066,67 Ca (24,93)	4274,50 ABa	3770,00 Ba (31,66)	3694,33 ABa	4462,50 Aba (37,38)

Tempo	Eosinófilos ( $\mu\text{L}$ )		Monócitos ( $\mu\text{L}$ )		Basófilos ( $\mu\text{L}$ )	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
<b>T0</b>	827,00 Aa	977,83 Aa (49,87)	621,67 Aa	837,67 Aa (63,34)	77,50 Ba	42,83 Ca (105,69)
<b>T1</b>	803,33 Aa	845,04 Aa (52,75)	235,00 BCb	673,67 Aa (58,75)	164,00 Aa	171,00 Aba (98,32)
<b>T2</b>	594,86 Aa	937,67 Aa (60,66)	402,83 ABa	259,17 Ba (49,90)	48,00 Ca	205,83 Aa (119,52)
<b>T3</b>	525,90 Aa	344,50 Aa (65,14)	490,67 ABa	479,50 Aba (51,50)	153,67 Aa	147,17 Ba (51,72)
<b>T4</b>	470,00 Aa	413,00 Aa (43,60)	167,00 Ca	256,00 Ba (59,16)	110,83 ABa	154,33 Aba (78,40)

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos de coleta (coluna) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas), submetidas ao teste Friedman, com  $P < 0,05$ , para monócitos e basófilos. Para as demais variáveis submissão ao teste de Tukey  $P < 0,05$ .

### 5.3.2. Contagem total de Leucócitos

Os valores médios de leucócitos totais variaram entre 8.716,67 a 11.933,33/ $\mu\text{L}$  de sangue no GRUPO FENO (feno) e entre 9.066,67 a 13.566,67/ $\mu\text{L}$  de sangue no GRUPO HAYLAGE (*haylage*). Nos dois grupos estudados, os maiores valores foram observados na primeira coleta (T0) e os menores, na última coleta (T4), conforme demonstrado na tabela 9.

Os valores fisiológicos para equinos situam-se entre 4,1 a 10,1 x 10<sup>3</sup>/ $\mu\text{L}$ , segundo literatura consultada (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988). Sendo assim, observa-se que houve alterações na contagem total de leucócitos, em ambos os grupos no T0 e T2.

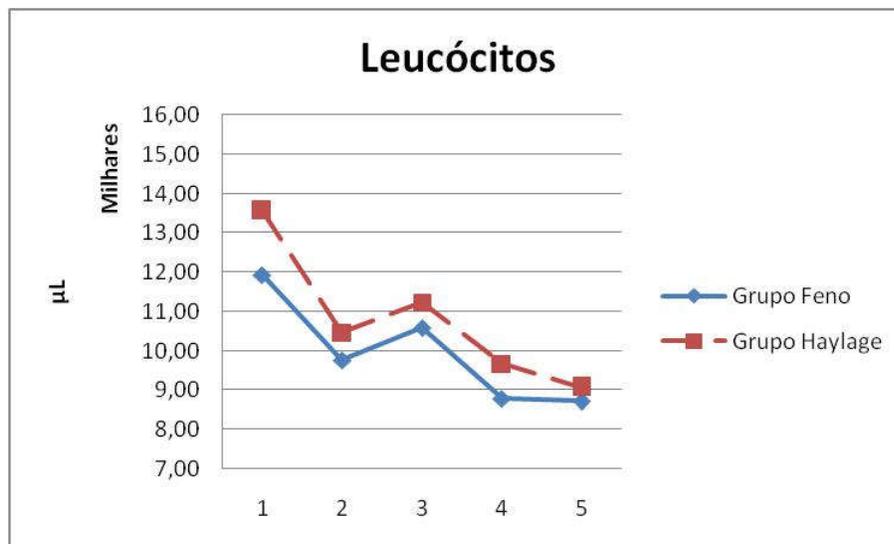


Gráfico 7. Comportamento da Contagem total de Leucócitos / $\mu\text{L}$  de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE).

Quando se observa o gráfico 7, percebe-se uma redução ao longo das coletas sanguíneas ( $p < 0,05$ ), tanto no grupo 1 (GRUPO FENO) quanto no grupo 2 (GRUPO HAYLAGE). Os valores mais altos observados na primeira coleta, possivelmente foram

decorrentes do estresse durante a coleta sanguínea (leucocitose fisiológica), com maior liberação de aminas biogênicas no sangue.

### 5.3.3. Contagem diferencial de leucócitos

São descritos valores de normalidade de linfócitos para equinos entre 1.400 a 4.300 células/ $\mu\text{l}$ , conforme estudos de Meyer et al. (1998). Portanto, os valores médios dos animais do GRUPO FENO na primeira coleta demonstram linfocitose fisiológica (Tabela 9). No GRUPO HAYLAGE, ocorreu linfocitose no T1 (primeira coleta) e T3 (Gráfico 8), coincidindo com os momentos de leucocitose fisiológica dos animais estudados. Em T5 os valores já se encontravam dentro da normalidade.

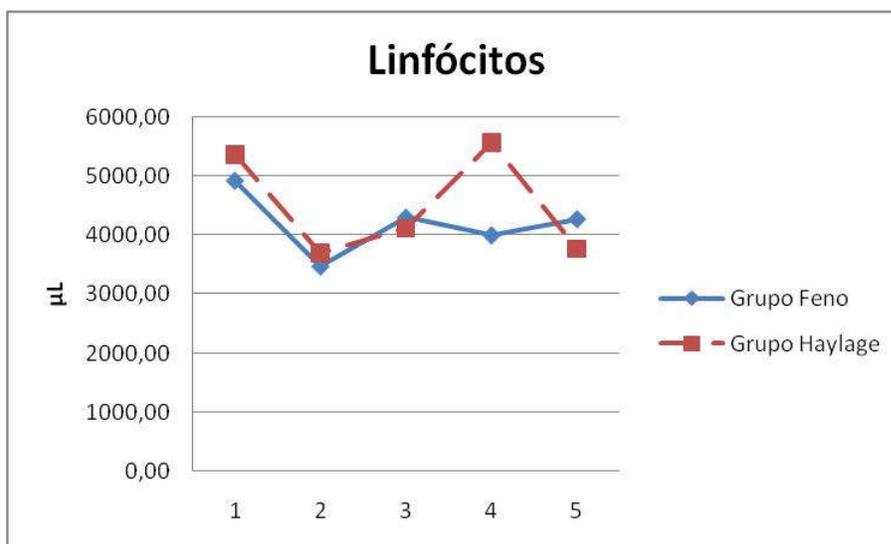


Gráfico 8. Comportamento da contagem total de Linfócitos/ $\mu\text{l}$  de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Levando-se em consideração os valores de normalidade determinados para neutrófilos em equinos entre 1.400 a 5.800 células/ $\mu\text{l}$  ((Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988), observa-se que não houve alteração fisiológica provocada pelos dois tipos de dietas fornecida aos animais (Tabela 9). Somente foi observada diminuição ( $P < 0,05$ ) entre os tempos T0 e T3 em ambos os grupos (Gráfico 9).

Em relação aos neutrófilos jovens, foram encontrados raros bastonetes em ambos os grupos submetidos às dietas diferenciadas e ao longo dos tempos de coleta, devendo ser ressaltado que estes achados são normais.

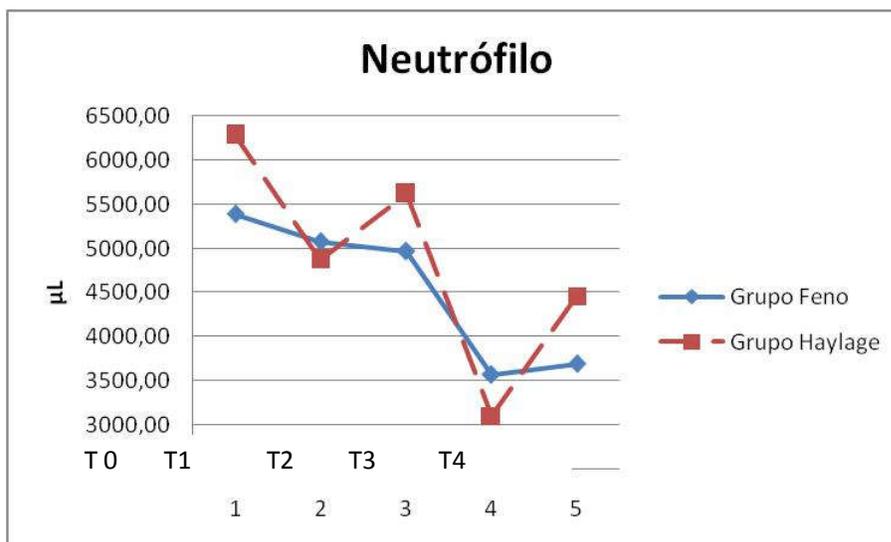


Gráfico 9. Comportamento da contagem total de Neutrófilos  $/\mu\text{l}$  de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

São descritos valores de normalidade para os eosinófilos entre 0 a 500 células/ $\mu\text{l}$  para equinos (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988). No GRUPO FENO (T0, T1, T2, T3), estas células apresentaram valores acima do limite máximo de normalidade (Tabela 9). Todavia, pode-se observar que os eosinófilos não sofreram alterações após administração de *haylage* ou feno de Tifton-85 (Gráfico 10). Estes achados são importantes, pois aumento do número de eosinófilos pode indicar reação de hipersensibilidade ou alérgica às dietas oferecidas.

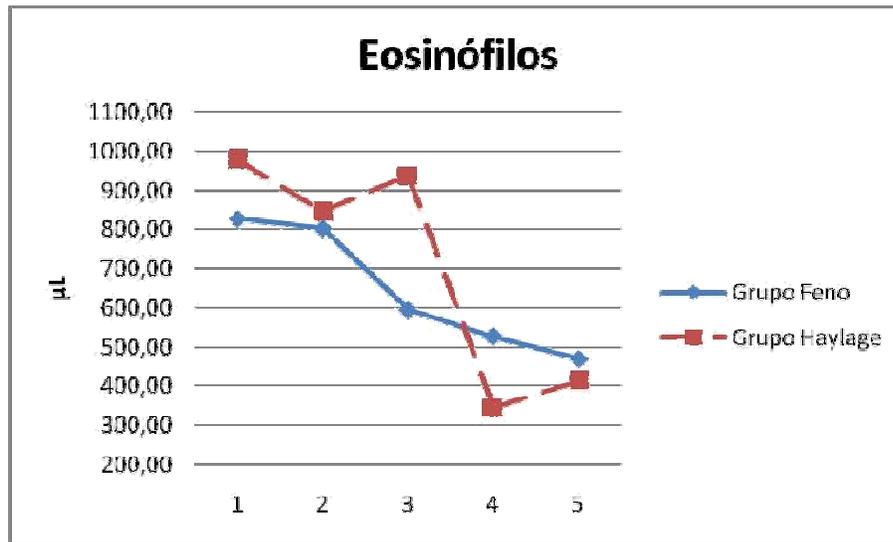


Gráfico 10. Comportamento da contagem total de Eosinófilos/ $\mu$ l de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE).

Os valores de normalidade de monócitos estabelecidos para equinos se encontram entre 0 a 200 células/ $\mu$ l de sangue (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988), portanto os valores encontrados em ambos os grupos em todos os momentos estão acima dos limites de normalidade (Tabela 9), exceto GRUPO FENO em T4. Houve diminuição ( $P < 0,05$ ) entre o T0 e T4 em ambos os grupos, sem significado clínico.

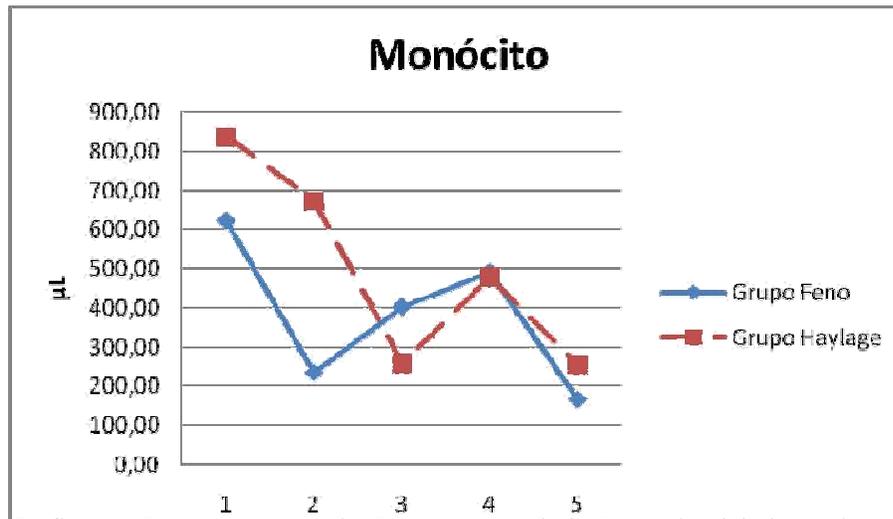


Gráfico 11. Comportamento da Contagem total de Monócitos/ $\mu$ l de equinos após administração de *haylage* (GRUPO FENO) e feno de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Nos equinos, os valores normais de basófilos situam-se abaixo de 300 células/ $\mu$ l de sangue (até 300  $\mu$ l). Apesar de ter havido alterações ao longo do tempo, estes se mantiveram dentro da normalidade fisiológica (Tabela 9 e Gráfico 12).

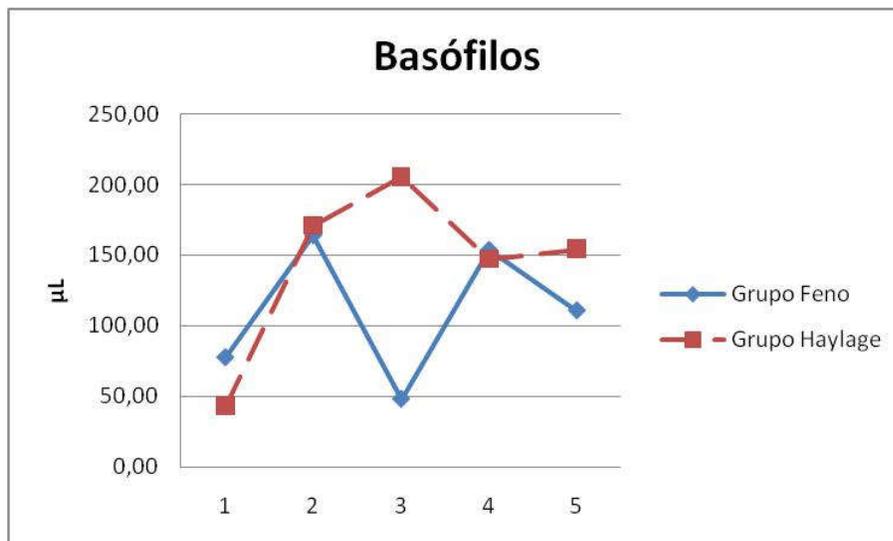


Gráfico 12. Comportamento da contagem total de Basófilos/ $\mu$ l de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Possivelmente, as diferentes dietas não causaram qualquer tipo de resposta inflamatória e/ou até mesmo alérgica nos animais estudados.

#### **5.4. Perfil bioquímico sanguíneo**

O perfil bioquímico compreende a dosagem de substâncias no sangue e a sua interpretação, com objetivos de diagnóstico, prognóstico, tratamento e conhecimento da fisiologia animal, nutrição, toxicologia, endocrinologia, patologia, doenças metabólicas e carências dos animais. O perfil bioquímico é utilizado como indicador dos processos adaptativos do organismo, no metabolismo energético, protéico e mineral, além de oferecer subsídios na interpretação do funcionamento hepático, renal, pancreático, ósseo e muscular (González et al., 2006).

Tabela 10 . Valores médios e Coeficiente de Variação de proteína total g/dL, albumina g/dL,  $\alpha$ 1a g/dL,  $\alpha$ 1b g/dL,  $\alpha$ 2a g/dL,  $\alpha$ 2b g/dL,  $\beta$ 1 g/dL,  $\beta$ 2a g/dL,  $\beta$ 2b g/dl e Gamaglobulina de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

VARIÁVEIS						
Tempo	Proteínas totais g/dL		Albumina (gq/dL)		$\alpha$ 1a	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
T0	6,67 Aa	7,07 Aa (10,49)	2,23 Aa	2,25 Aa (24,16)	0,27 ABa	0,27 Aa (33,74)
T1	5,57 Aa	6,10 Aa (19,39)	1,28 Ba	1,74 Aa (29,51)	0,17 Ba	0,20 Aa (57,92)
T2	5,80 Aa	6,60 Aa (19,98)	1,78 ABb	2,40 AA (30,63)	0,27 ABa	0,23 Aa (22,02)
T3	6,57 Aa	6,90 Aa (22,46)	1,87 Aba	2,06 Aa (24,53)	0,28 Aa	0,28 Aa (24,70)
T4	6,20 Ab	7,53 Aa (12,69)	2,11 Aa	2,34 Aa (13,01)	0,21 ABa	0,26 Aa (38,43)

Tempo	$\alpha$ 1b		$\alpha$ 2a		$\alpha$ 2b		$\beta$ 1	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
T0	0,12 Aa	0,15 Aa (61,24)	0,13 Ba	0,11 Aa (61,06)	0,27 Aa	0,25 Aa (84,42)	0,63 Aa	0,74 Ba (35,42)
T1	0,12 Aa	0,12 Aa (68,93)	0,21 ABa	0,21 Aa (28,70)	0,24 Aa	0,25 Aa (55,27)	0,73 Ab	1,29 Aa (49,01)
T2	0,14 Aa	0,16 Aa (37,55)	0,17 ABa	0,22 Aa (58,99)	0,28 Aa	0,22 Aa (50,34)	0,61 Aa	0,84 Ba (37,51)
T3	0,19 Aa	0,17 Aa (37,08)	0,25 ABa	0,23 Aa (54,47)	0,31 Aa	0,34 Aa (57,08)	0,84 Aa	0,92 Aba (27,96)
T4	0,13 Ab	0,21 Aa (46,44)	0,38 Aa	0,27 Aa (56,35)	0,16 Aa	0,31 Aa (65,72)	0,77 Aa	0,92 Aba (15,86)

Tempo	$\beta_{2a}$		$\beta_{2b}$		$\gamma_{\text{glob}}$		Alb/Glob	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
<b>T0</b>	1,40 Aa	0,93 Ab (43,45)	0,86 Ab	1,22 Aa (36,87)	0,86 Aa	1,11 Aa (33,50)	0,49	0,47
<b>T1</b>	1,00 ABa	1,14 Aa (35,76)	0,51 ABa	0,59 Ba (33,67)	1,15 Aa	1,22 Aa (31,04)	0,34	0,34
<b>T2</b>	0,89 Ba	0,90 Aa (32,06)	0,56 ABa	0,53 Ba (56,36)	1,11 Aa	1,07 Aa (24,55)	0,44	0,57
<b>T3</b>	1,28 ABa	1,18 Aa (29,27)	0,45 Ba	0,64 Ba (38,53)	1,27 Aa	1,25 Aa (30,41)	0,35	0,41
<b>T4</b>	1,01 ABa	1,06 Aa (18,34)	0,37 Bb	0,76 Ba (47,84)	<b>1,07 Aa</b>	1,39 Aa (20,41)	0,51	0,45

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos de coleta (coluna) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas), submetidas ao teste Tukey, com  $P < 0,05$ .

#### 5.4.1. Proteínas totais

As proteínas totais ou PT referem-se a todas as proteínas, que são compostas pela albumina e pelas globulinas. As determinações de PT com acompanhamento ao hemograma são úteis para avaliação dos líquidos e eletrólitos, e ainda como auxiliar no diagnóstico da anemia (Jain, 1993).

A concentração sérica de proteínas variou de 5,57 – 7,53 g/L neste estudo, como demonstrado na tabela 10 e gráfico 13. Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) dos valores médios de PT entre as dietas e os tempos analisados (T1 à T4). Somente, houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre os grupos 1 e 2, na última coleta (Tabela 10), sem significado clínico, já que os valores de PT estão dentro dos limites de normalidade para a espécie equina de 4,6 - 7,0 g/dl (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988),

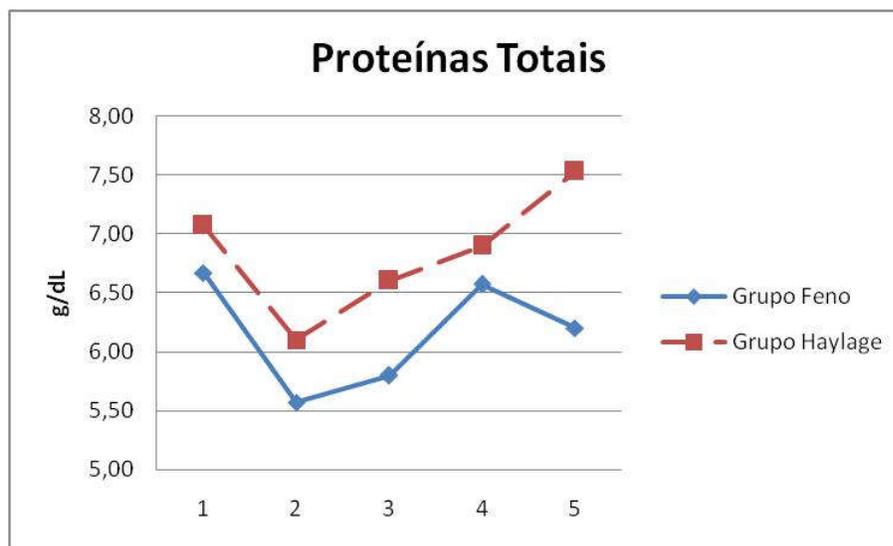


Gráfico 13. Comportamento dos valores médios de proteína plasmática total g/dl de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

As proteínas plasmáticas estão envolvidas em múltiplas funções, tais como manutenção da pressão osmótica e viscosidade do sangue, transporte de substâncias

(nutrientes, hormônios, metabólitos), regulação do pH e coagulação do sangue. Sua síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal e com a funcionalidade hepática (González et al., 2003). A concentração das proteínas totais pode ser afetada por alterações de síntese hepática, desidratação ou super-hidratação (Kaneko et al., 1997).

#### 5.4.2. Proteínas séricas fracionadas

O proteinograma pode ser uma ferramenta utilizada no diagnóstico laboratorial. Existe um grupo de proteínas séricas denominadas proteínas de fase aguda, que auxiliam na avaliação de infecção, trauma, desnutrição, desidratação e inflamações nos equinos, uma vez que nestas condições há aumento de sua síntese e liberação pelo fígado (Eckersall, 2008).

O traçado eletroforético das proteínas plasmáticas dos equinos revelou nove bandas distintas: albumina,  $\alpha$ 1a-globulina,  $\alpha$ 1b-globulina,  $\alpha$ 2a-globulina,  $\alpha$ 2b-globulina,  $\beta$ 1-globulina,  $\beta$ 2a-globulina,  $\beta$ 2b-globulina e  $\gamma$ -globulinas (Figuras 5 e 6 ) diferente do relatado por Di Filippo et al. (2010), os quais descreveram seis bandas.



Figura 5. Geis de agarose demonstrando o fracionamento eletroforético das proteínas plasmáticas de equinos.

Arquivo pessoal: Taciano C. Guimarães (2014)

O perfil protéico fracionado demonstra a ocorrência de processos inflamatórios agudos e crônicos, disfunções hepáticas, perdas proteicas, síndromes nefróticas e alterações das globulinas que ajudam o entendimento da resposta imunológica. Por meio da eletroforese ocorre segregação das proteínas que por sua vez, podem ser identificadas e quantificadas em duas frações principais, que são a albumina e as globulinas, sendo estas últimas subdivididas em três sub-frações, denominadas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -globulinas (Kaneko et al., 1997).

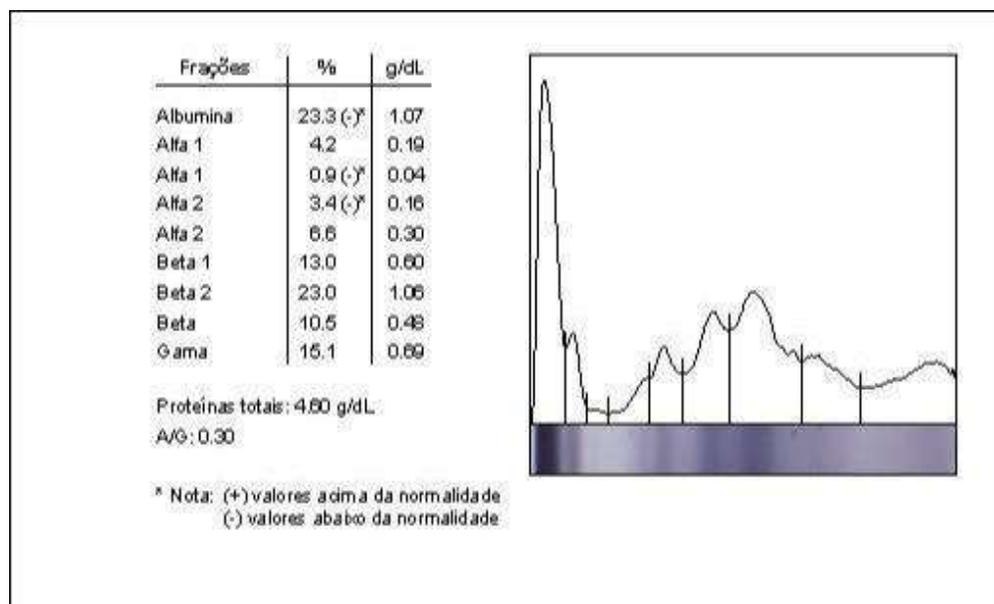


Figura 6. Perfil eletroforético demonstrando as nove frações protéicas do plasma de equinos.

Arquivo pessoal: Taciano C. Guimarães (2014)

A concentração média da albumina neste estudo variou de 1,28 – 2,40 g/L, conforme tabela 10. Os valores médios de albumina descritos para equinos estão entre 1,7 a 3,7 g/dL (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988). Apesar de ter sido observada uma diminuição ( $P < 0,05$ ) no GRUPO FENO na primeira semana (T1) após a administração do feno, verifica-se que os demais valores encontrados permaneceram dentro dos limites de normalidade (Gráfico 14). A redução dessa proteína está

relacionada com doenças hepáticas, gastrointestinais, má nutrição dos animais, perda de sangue ou plasma o que não ocorreu nos animais do presente estudo, uma vez que se encontravam clinicamente saudáveis.

A Albumina é sintetizada no fígado e responde por cerca de 80% da pressão oncótica do sangue, sendo também uma importante proteína transportadora, com significativa participação no transporte de ácidos graxos livres, ácido biliares, bilirrubina, cálcio, hormônios e medicamentos (Thrall et al., 2007).

Também deve ser ressaltado que no GRUPO FENO nos tempos T2, T3 e T4 houve um aumento gradativo na concentração de albumina. Uma possível explicação para este aumento é a adaptação do organismo animal à dieta.

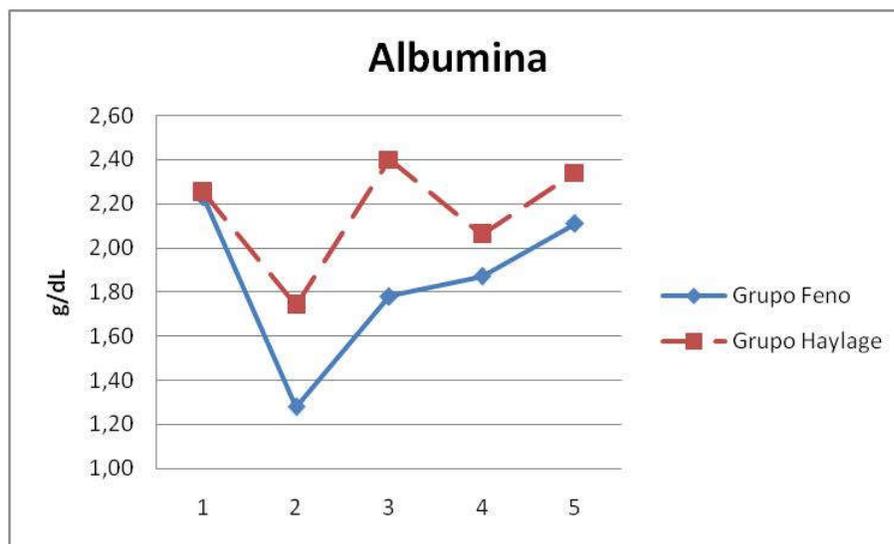


Gráfico 14. Comportamento dos valores médios de albumina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e haylage de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

As globulinas englobam diversos tipos de moléculas de anticorpos e outras proteínas que atuam no sistema imune, fatores de coagulação, enzimas e proteínas transportadoras de lipídeos, vitaminas, hormônios, hemoglobina extracelular e íons metálicos (ferro e cobre). Elas são divididas em três grandes grupos: alfa, beta e

gamaglobulinas, as quais podem ser avaliadas por meio do fracionamento proteico eletroforético (Kaneko et al., 1997).

A relação albumina:globulinas (A/G) normalmente é alterada na presença de infecções, com inversão de valores, pelo aumento que ocorre na concentração das gamaglobulinas. A inversão sugere a ocorrência de processos inflamatórios agudos e crônicos, disfunções hepáticas, perdas protéicas, síndromes nefróticas e outras alterações que ajudam no entendimento da resposta imunológica (Kaneko et al., 1997).

A concentração sérica média de  $\alpha$ 1a-globulinas variou de 0,17 a 0,28 g/dL (Tabela 10) sem diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos. O traçado do proteinograma das éguas destes estudo não se assemelhou aos observados por Di Filippo et al. (2010), que não encontraram subdivisões nas frações alfa de equinos sem raça definida. Todavia baseando-se nos valores de referência dos animais controle no estudo citado, pode-se observar que não houve alterações fisiológicas prejudiciais aos animais do experimento. Como não ocorreu diferença significativa entre grupos ( $P < 0,05$ ), conclui-se que as dietas testadas não foram capazes de alterar esta fração.

Usando-se o tempo zero (T0) deste estudo como referência, nota-se que apenas no T1 (7 dias) do GRUPO FENO houve uma diminuição, sem significado clínico.

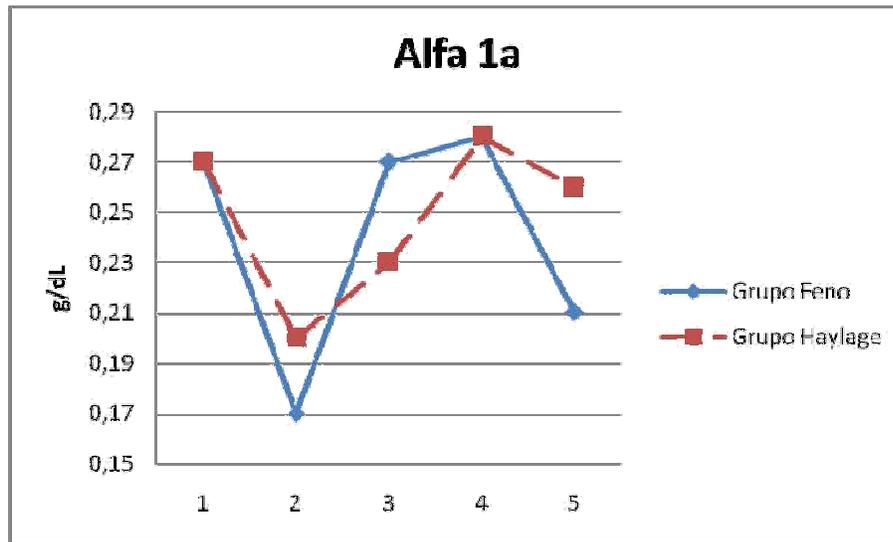


Gráfico 15. Comportamento dos Valores médios de  $\alpha$ 1a-globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Em relação as  $\alpha$ 1b-globulinas g/dL, houve alterações no T4 entre GRUPO FENO e GRUPO HAYLAGE (Tabela 10). Embora sem diferença ( $P < 0,05$ ) com o T0, tempo utilizado como valor referência dos animais. A concentração média de  $\alpha$ 1b globulina neste estudo variou de 0,12- 0,21 g/L.

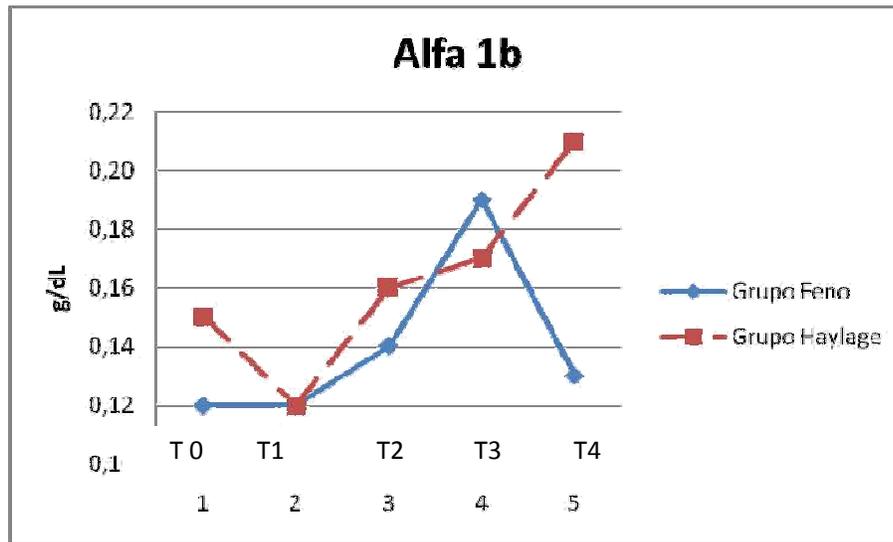


Gráfico 16. Comportamento dos Valores médios de  $\alpha$ 1b-globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

As frações  $\alpha$ 1a-globulinas e  $\alpha$ 1b-globulinas são transportadoras de lipídios, responsáveis pelo acompanhamento da ação das enzimas lisossômicas, e também pela síntese do hormônio da tireóide, transportando T3 e T4. Já a fração de ligação retinol, faz o transporte de vitamina A, normalmente associada com albumina (Kaneko et al., 1997).

Os animais pertencentes ao grupo que recebeu feno de Tifton-85, quatro semanas após, apresentaram um aumento ( $P < 0,05$ ) no valor médio de  $\alpha$ 2a- globulinas quando comparado com o T0 (Tabela 10). A concentração média de  $\alpha$ 2a globulina variou de 0,11 – 0,38 g/dL nos animais deste estudo.

Kaneko et al. (1997) relatam que a primeira fração  $\alpha$  a migrar para o foco inflamatório é a  $\alpha$ 1- globulina, seguida da  $\alpha$ 2- globulina, que é um achado normal em muitas espécies animais, inclusive os equinos. A  $\alpha$ 1-globulina caracteriza-se por elevar-se precocemente após infecção ou lesão tecidual e normaliza-se rapidamente após o término do estímulo. Por sua vez, as  $\alpha$ 2-globulinas elevam-se mais tardiamente, permanecendo assim por várias semanas.

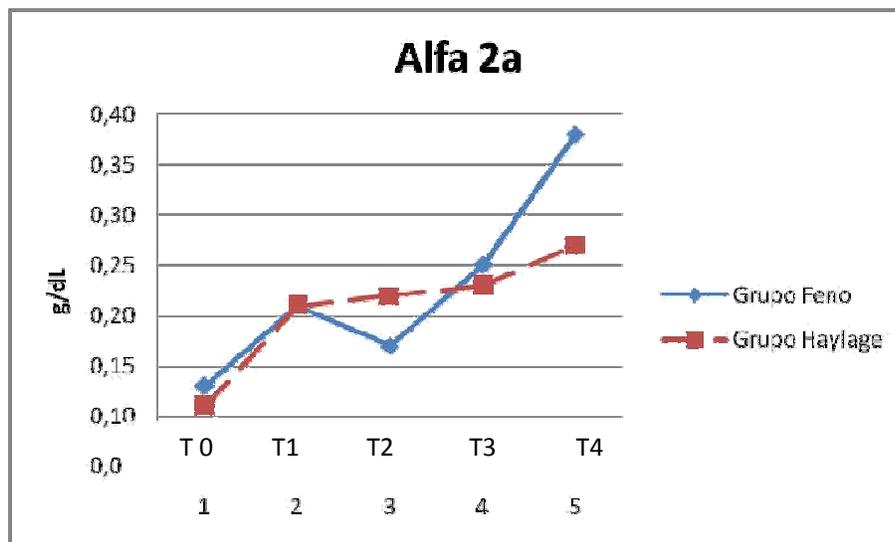


Gráfico 17. Comportamento dos Valores médios de  $\alpha$ 2a- globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Observa-se um aumento gradativo das  $\alpha$ 2a-globulinas, especialmente após administração do feno de Tifton-85 (Gráfico 18). O aumento das  $\alpha$ 2a-globulinas em equinos representa uma resposta inflamatória ou dano tecidual, em maior frequência. Di Filippo et al. (2010). relataram um aumento de  $\alpha$  globulinas em casos de desidratação e reações pós-vacinais.

Já em relação as  $\alpha$ 2b- globulinas não houve diferença em equinos alimentados com feno ou com *haylage* de Tifton-85 durante os diferentes tempos estudados. Foram encontrados valores médios de  $\alpha$ 2b entre 0,16 – 0,34 g/dL.

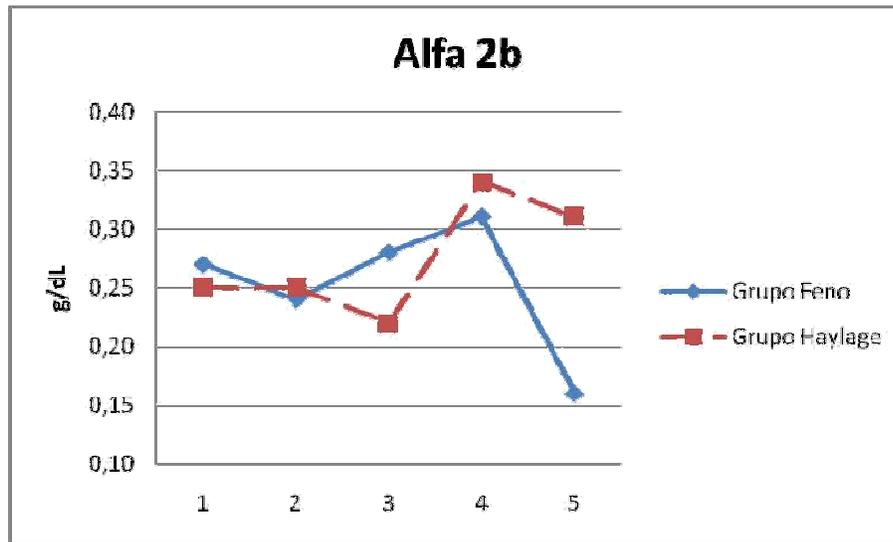


Gráfico 18. Comportamento dos Valores médios de  $\alpha$ 2b- globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Kaneko et al. (1997) e Thrall et al. (2007) afirmaram também que o aumento de  $\alpha$ -globulina não é específico e de importância diagnóstica limitada. A causa mais comum é inflamação aguda. Aumento de lipoproteínas e  $\alpha$ -2 macroglobulinas ocorrem na síndrome nefrótica e podem aumentar a concentração de alfa globulinas.

A fração  $\beta$ -globulina se subdividiu em  $\beta$ 1,  $\beta$ 2a e  $\beta$ 2b-globulinas no proteinograma dos equinos submetidos ao protocolo das dietas (Figura 6).

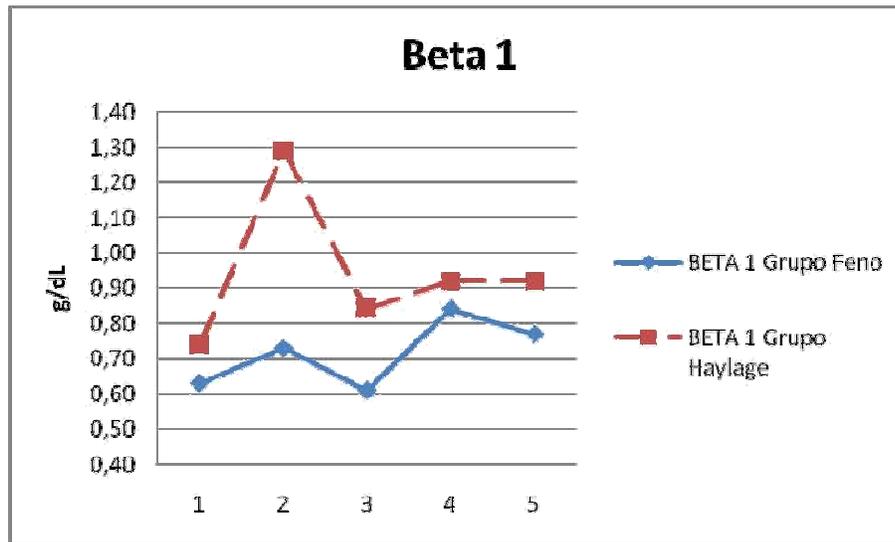


Gráfico 19. Comportamento dos Valores médios de  $\beta$ 1-globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

No tempo zero os valores médio da fração  $\beta$ 1 foram 0,63 e 0,74 g/dL respectivamente para feno e *haylage* de Tifton-85 (Gráfico 19). Somente houve um aumento ( $P < 0,05$ ) no GRUPO HAYLAGE (*haylage* de Tifton-85) uma semana após a administração (Tabela 10), sem significado clínico já que esses estão em concordância com o limite de normalidade para a espécie equina (1,3 g/dL) (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988), e nas demais semanas os valores encontrados foram intermediários.

O aumento das  $\beta$ 1- globulinas g/dL em equinos representa uma resposta inflamatória aguda, ou reações tumorais (Kaneko et al., 1997). Estes autores, também atestaram que o aumento de  $\beta$ -globulinas pode ocorrer na síndrome nefrótica, inflamação aguda (proteína C reativa, complemento e ferritina), hepatites e respostas imunes, fatos que não ocorreram nestes animais.

Quatorze dias após a administração do feno de Tifton-85 (GI) houve uma diminuição ( $P < 0,05$ ) das  $\beta$ 2a -globulinas (Tabela 10 e Gráfico 20), fato não observado no grupo que recebeu o pré secado (*haylage*), que se manteve estável.

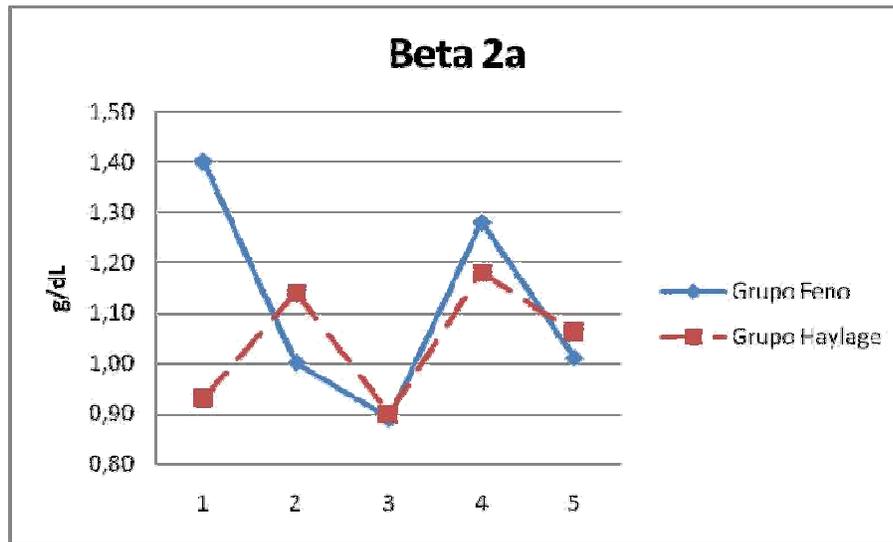


Gráfico 20. Comportamento dos Valores médios de  $\beta$ 2a globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Houve uma diminuição ( $P < 0,05$ ) de  $\beta$ 2b globulinas de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE) (Tabela 10). A diminuição das  $\beta$ 2b-globulinas em equinos representa enfermidades exsudativas, insuficiência pancreática, nefropatias e desnutrição.

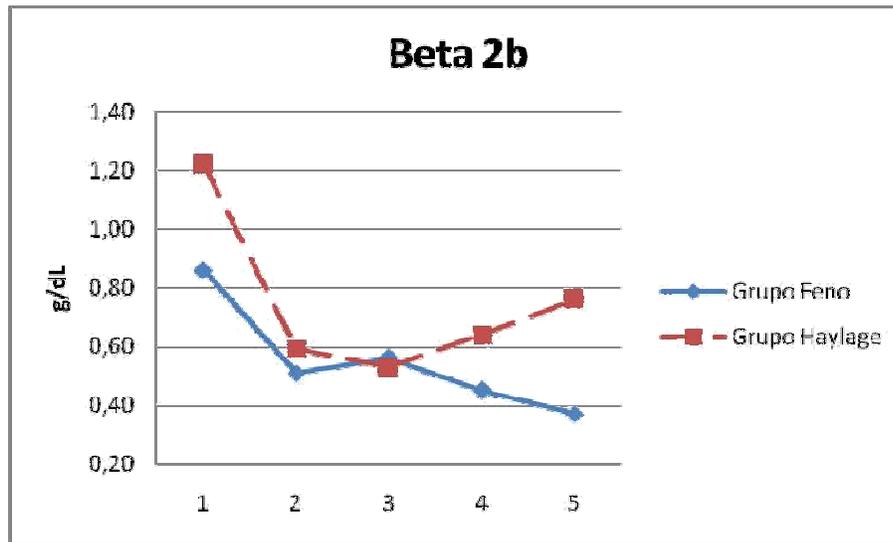


Gráfico 21. Comportamento dos Valores médios de  $\beta$ 2b globulinas g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Os valores de referência para equinos da fração  $\gamma$ -globulina estão abaixo de 1,4g/dL (Beaufort Cottage Laboratories, 1987/1988). Portanto, todos os valores estão dentro do limite de normalidade e não foram observadas diferenças entre os grupos ou tempos estudados (Tabela 10 e Gráfico 22).

Sabe-se que a fração  $\gamma$  é formada por imunoglobulinas (IgA, IgM, IgE, IgD e IgG) e que na resposta primária frente a um antígeno há predomínio de IgM e na secundária IgG (Kaneko et al., 1997).

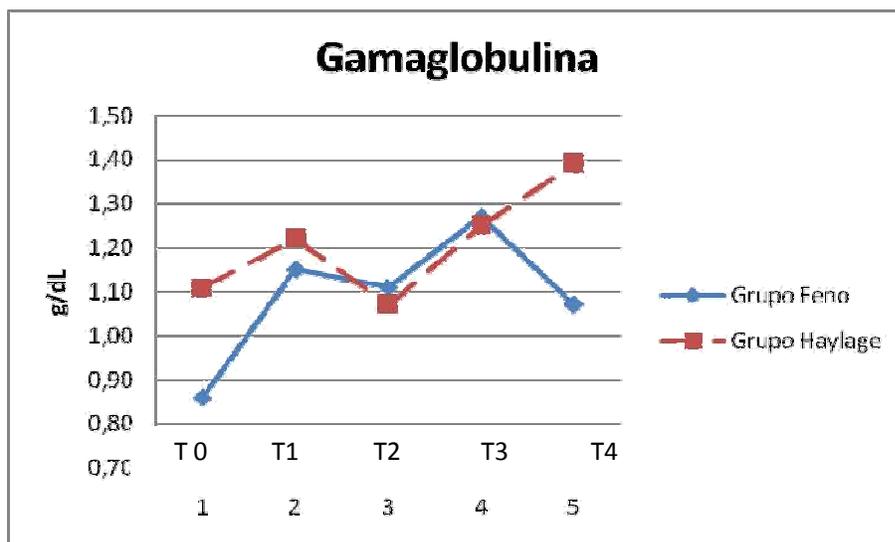


Gráfico 22. Comportamento dos Valores médios de  $\gamma$ -globulina g/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

A proporção A/G em equinos saudáveis se encontra entre 0,62 à 1,03 g/dl (Mundim et al, 2004). Neste estudo, considerando os valores no tempo zero (0,47 – 0,49), percebe-se, que estes estão abaixo do limite inferior nos dois grupos avaliados (Tabela 11). Logo após a primeira semana de administração do feno (GI) ocorre uma redução de A/G (que persiste até T3) (Gráfico 23), coincidindo com a diminuição da albumina. Como causas de redução da relação A/G são relatadas: hipoalbuminemia, insuficiência hepática, parasitismo gastrointestinal, má nutrição e doenças glomerulares (Thrall et al., 2007). No caso do presente experimento, pode-se suspeitar de que os animais podem ter sido infectados com parasitas gastrointestinais por estarem em baias e susceptíveis a uma reinfecção mais frequente (Inácio et al, 2013 e Jacomino et al., 2008).

Tabela 11. Relação Albumina/Globulina (g/dl) de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Tempo	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
T0	0,49 Aa	0,47 Aa
T1	0,34 Ba	0,34 Ba
T2	0,44 Ab	0,57 Aa
T3	0,35 Ba	0,41 Aa
T4	0,51 Aa	0,45 Aa

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos de coleta (coluna) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas), submetidas ao teste de Tukey,  $P < 0,05$ .

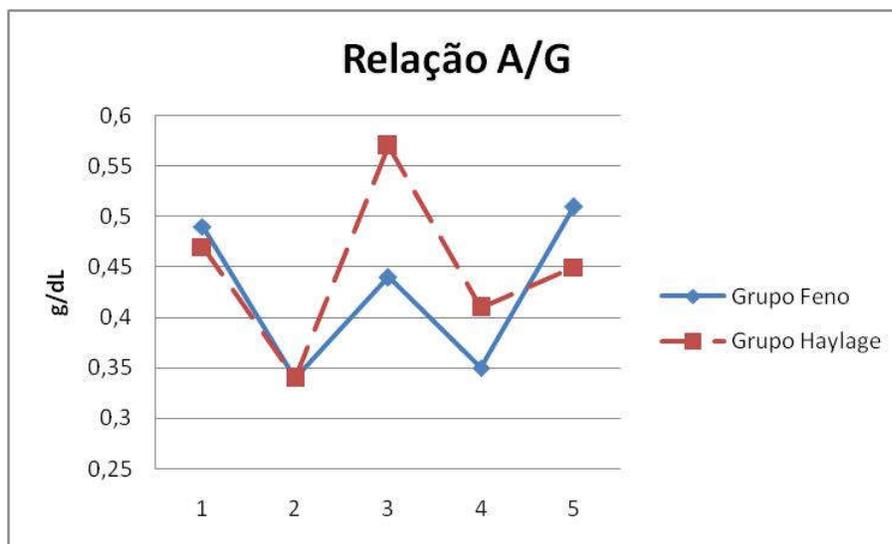


Gráfico 23. Comportamento da Relação Albumina/Globulina (g/dl) de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Tabela 12. Valores médios e Coeficiente de Variação de GGT UI/L, AST UI/L, ALT UI/L, F.A UI/L, Uréia g/dL, Creatinina mg/dL, de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

VARIÁVEIS						
Tempo	GGT		AST		ALT	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
T0	12,65 Ba	12,90 Aa (30,06)	262,27 Aa	177,41 Aba (43,11)	7,06 Aa	8,14 Aa (86,32)
T1	13,50 Ba	14,27 Aa (55,99)	227,18 Aa	138,39 Ba (47,47)	8,95 Aa	9,11 Aa (102,89)
T2	17,36 ABa	16,65 Aa (24,47)	200,43 Aa	145,17 Ba (4,18)	9,74 Aa	15,24 Aa (74,94)
T3	20,73 ABa	17,81 Aa (33,19)	231,89 Aa	158,50 Ba (52,15)	5,72 Aa	6,77 Aa (45,83)
T4	22,66 Aa	19,24 Aa (32,16)	259,97 Aa	230,23 Aa (35,52)	9,23 Aa	10,83 Aa (36,56)

Tempo	FA		Uréia		Creatinina	
	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE	GRUPO FENO	GRUPO HAYLAGE
T0	20,68 Da	20,26 Ba (35,32)	42,82 Aa	41,54 Aba (14,29)	1,37 ABCa	1,26 ABa (16,38)
T1	340,44 BCa	305,94 Aa (31,47)	62,80 Aa	60,28 Aa (8,79)	1,54 ABa	1,45 Aba (19,67)
T2	177,32 CDa	192,07 Aba (22,85)	30,91 Ba	35,73 BCa (17,59)	1,18 BCa	1,13 Ba (6,66)
T3	517,08 ABa	224,14 Aa (60,34)	32,61 Ba	34,41 BCa (11,01)	1,60 Aa	1,54 Aa (19,08)
T4	524,80 Aa	289,53 Aa (41,31)	31,80 Ba	33,41 Ca (9,05)	1,10 Ca	1,21 Aba (10,76)

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos de coleta (coluna) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas), submetidas ao teste Friedman, com  $P < 0,05$ , para F.A, Uréia e Ca. Demais variáveis tratadas com teste de Tukey,  $P < 0,05$ .

## 5.5. Enzimas séricas

### 5.5.1 Gama-glutamyltransferase (GGT)

Foi realizada dosagem sérica de GGT para avaliar a função hepática dos animais (especialmente obliteração de ductos biliares), uma vez que o fígado por ser órgão primário ao metabolismo e detoxificação, está sujeito a injúrias. Duncan et al. (1994) descreveram valores normais de GGT entre 6 a 32 UI/L. Meyer et al. (1995), Kaneko et al. (1997) e Gonzáles et al. (2006) relataram valores fisiológicos de GGT entre 4 a 13,4 UI/L. Meyer e Harvey (1998) descrevem valores para equinos de GGT entre 9 a 25 UI/L. Valores de até 35 UI/L são considerados normais para equinos adultos, segundo achados de Franciscato et al., (2006).

A Tabela 12 contem as médias de GGT dos grupos estudados nos diferentes tempos e observa-se que apesar de um aumento gradativo, somente entre T2 e T4 nos animais do grupo 1 (GRUPO FENO), esse aumento foi significativo. Apesar de todos os valores estarem abaixo do limite máximo permitido para equinos segundo Duncan et al. (1994) e Meyer e Harvey (1998), observa-se uma tendência de aumento a cada semana estudada em ambos os grupos (Gráfico 24). Todavia quando se comparam os resultados com os valores descritos por Meyer et al. (1995) e Kaneko et al. (1997), em ambos os grupos, após a ingestão de feno ou *haylage* (T1, T2, T3 e T4), os valores de GGT estão acima do limite superior.

A mesma tendência de aumento foi observada no grupo 2 (*haylage* de Tifton-85) conforme demonstrado no gráfico 24.

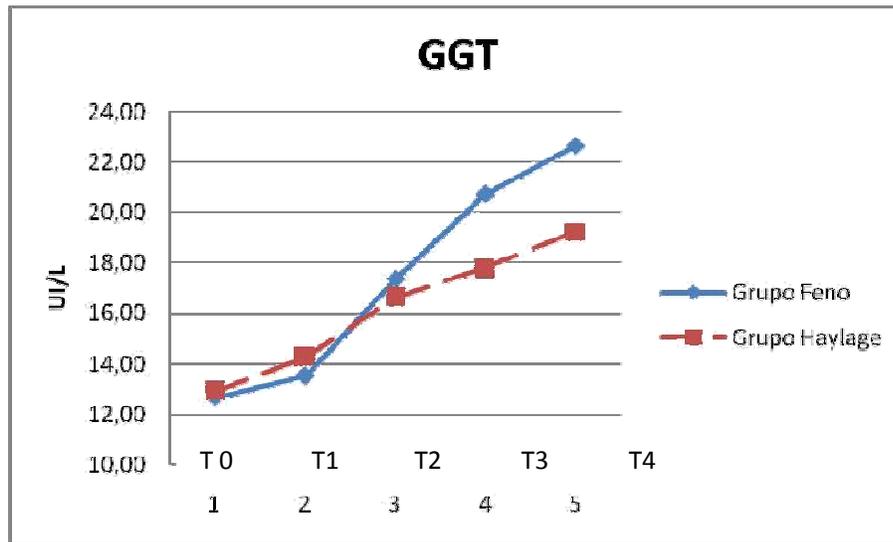


Gráfico 24. Comportamento dos Valores médios de GGT UI/L de equinos após administração de *haylage* (GRUPO FENO) e feno de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Os valores de GGT devam ser também analisados com AST e ALT pois fornecem parâmetros para a análise da presença ou ausência de disfunções hepáticas, já que estas enzimas não são órgão-específicas. A GGT é considerada uma enzima de indução. Ela é sintetizada por quase todos os tecidos corporais, com maior concentração no pâncreas e nos rins. Está presente também nos hepatócitos, no epitélio de ductos biliares e na mucosa intestinal, em baixas concentrações (Thrall et al., 2007).

### 5.5.2. Aspartato Aminotransferase (AST)

Os maiores valores de AST foram observados na última coleta (T4) de ambos os grupos, e no GRUPO HAYLAGE (*haylage* de Tifton-85), o valor médio encontrado em T4 (230,23 UI/L) apresentou-se elevado ( $p < 0,05$ ) quando comparado com os valores médios encontrados em T1, T2 e T3 (Tabela 12 e Gráfico 25). Apesar de esta enzima não ser hepato-específica, neste mesmo tempo (T4) também ocorreram os maiores valores médios de GGT, possivelmente por uma maior indução enzimática dos hepatócitos.

A AST está presente em maior concentração nos hepatócitos e nas células musculares (esqueléticas e cardíacas) de todas as espécies. Duncan et al. (1994) relataram valores de normalidade de AST entre 160 a 412 UI/L. Meyer et al. (1995) e Kaneko et al. (1997) descreveram valores de AST entre 226 a 366 UI/L. Meyer e Harvey (1998) encontraram valores normais de AST entre 152 a 292 UI/L. E Franciscato et al. (2006) estudando éguas adultas da raça Crioula observaram valores de AST entre 110 a 382 UI/L.

Como não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) com o tempo de referencia T0 em ambos os grupos, este aumento não tem significado clínico).

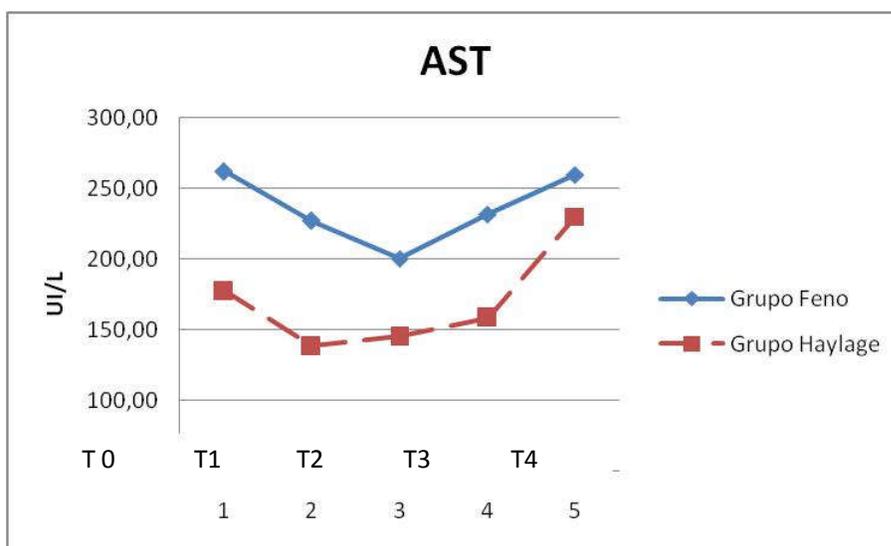


Gráfico 25. Comportamento dos Valores médios de AST UI/L de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

### 5.5.3. Alanina aminotransferase (ALT)

ALT é uma enzima de extravasamento que está livre no citoplasma. As concentrações da enzima alanina aminotransferase de equinos alimentados com feno e *haylage* de Tifton-85 se encontram na Tabela 12.

Percebe-se um aumento de ALT 15 dias após o fornecimento tanto de feno como de *haylage* de Tifton-85, sem diferença significativa (Gráfico 26). O intervalo fisiológico normal de ALT para equinos se encontra entre 3 a 23 UI/L, segundo valores encontrados no trabalho de Gonzáles et al., 2006.

A concentração de ALT nos hepatócitos de equinos é baixa, consequentemente, a atividade sérica de ALT nessa espécie não é muito útil para detectar patologias hepáticas (Thrall et al., 2007).

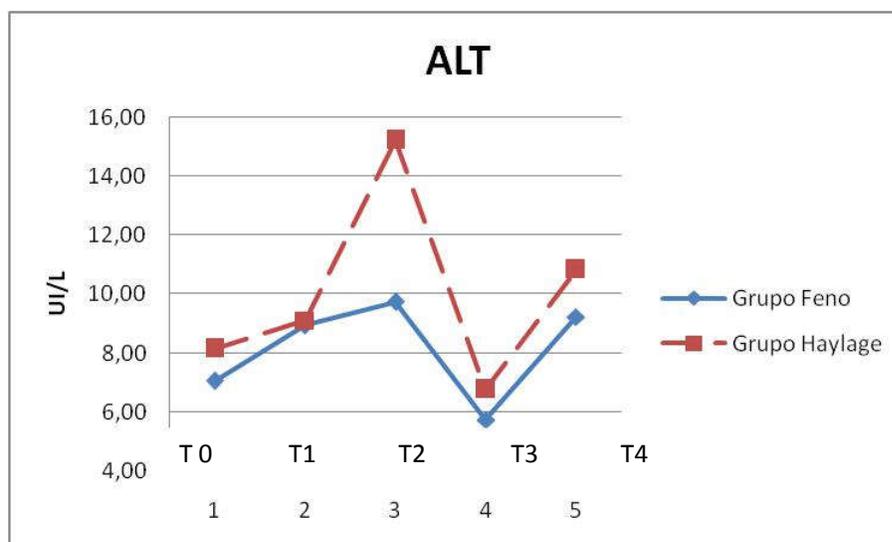


Gráfico 26. Comportamento dos Valores médios de ALT UI/L de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

#### 5.5.4. Fosfatase alcalina (FA)

A concentração média de FA neste estudo variou entre 20,26 a 524,80 UI/L. Houve aumento significativo em ambos os grupos, com os maiores valores no grupo que recebeu feno (Tabela 12 e Gráfico 27). Após o fornecimento do feno de Tifton-85, os valores passaram de 20,68 no tempo zero para 524,80 UI/L. E, após a administração da *haylage*, a FA passa de 20,26UI/L no T0 para 289,53UI/L em T4.

De acordo com Beaufort Cottage Laboratories (1987/1988), os valores de fosfatase alcalina devem ser inferiores a 131UI/L. Conforme descrito no trabalho de Gonzáles et al (2006), os valores fisiológicos normais da FA para equinos se encontram entre 143 a 395UI/L. Portanto, somente no T0 de ambos os grupos, os valores de FA apresentavam abaixo do limite permitido.

Meyer et al. (1998) relataram valores fisiológicos normais da FA para equinos entre 143 a 395 UI/L. Quando se compara com os valores descritos por estes autores, somente em T3 (517,08 UI/L) e T4 (524,80 UI/L) do GRUPO FENO, estes ficaram acima do limite máximo de normalidade.

Quando se comparam os grupos feno e *haylage*, os valores são muito semelhantes em T0 (20,68 e 20,26UI/L); T1 (340,44 305, 94 UI/L) e T2 (177,32 e 192, 07 UI/L). Todavia, no grupo feno, a FA continua aumentando gradativamente.

Kaneko et al. (1997), Gonzáles et al. (2006) e Thrall et al. (2007) relataram que o aumento de FA ocorre após lesões hepáticas devendo ser analisado o comportamento de outras enzimas (GGT, AST e ALT) e, nos casos de lesões ósseas ou atividade celular óssea aumentada, devendo ser avaliada a relação Ca/P.

Vieira (1999) trabalhando com marcadores bioquímicos de metabolismo ósseo relatou que a fosfatase alcalina é um indicador da atividade do osteoblasto na matriz óssea, e pode ser utilizado para acompanhar a restituição do tecido ósseo, desde que o perfil hepático não apresente alterações consideradas importantes.

Em casos de gestação, os valores elevam de duas a três vezes o valor de referência, principalmente pela produção da fração placentária, mas também pelo aumento da isoenzima óssea, relatado por Neto et al. (1971), Campelo (2008), Vita et al. (2014) que realizaram pesquisas em éguas gestantes e ao parto.

Também deve ser salientado que a mucosa do intestino delgado de muitas espécies de animais, incluindo os equinos, é extremamente rica em FA, enquanto que a mucosa do intestino grosso possui pequena quantidade desta enzima. Tal fato faz com que a FA seja considerada específica para o diagnóstico de lesões localizadas no intestino delgado. No entanto, Di Filippo et al. (2012) trabalhando com coelhos e cães

verificaram-se aumento na atividade de FA no líquido peritoneal após lesões no intestino delgado sem, contudo acarretar alterações na atividade sérica dessa enzima.

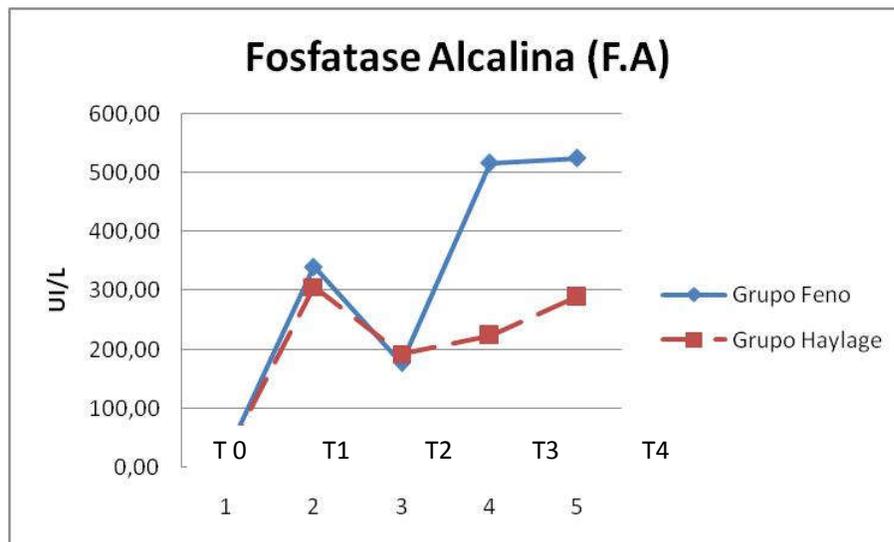


Gráfico 27. Comportamento dos Valores médios de fosfatase alcalina UI/L de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE).

### 5.6. Uréia e Creatinina

Não houve alterações nestes produtos do catabolismo nos animais do GRUPO FENO e GRUPO HAYLAGE. Entretanto, no T1, em ambos os grupos os valores de ureia ficaram acima do limite de normalidade. Este aumento pode ser resultante de uma maior ingestão de nitrogênio não proteico, e posterior adaptação da dieta em T2, T3 e T4.

A avaliação da função renal dos equinos submetidos às duas dietas foi feita por meio da dosagem sérica de uréia e creatinina. O aumento da concentração da uréia sanguínea, que nos equinos deve se encontrar na faixa entre 20 a 50mg/dL, reflete mecanismos renais e extra-renais, tais como catabolismo tecidual devido à febre, exercícios, ingestão efetivamente a base de proteínas aumentando o aporte de

aminoácidos, desidratação, diminuição da função cardíaca e hipovolemia. A origem renal inclui doenças renais, como nefrites agudas e crônicas, além de processos obstrutivos que impeçam ou dificultam a eliminação da urina. A redução sérica da uréia se relaciona com ingestão de dieta com baixo teor de proteína, super-hidratação, má nutrição, síndrome de má absorção e insuficiência hepática (González, 2003).

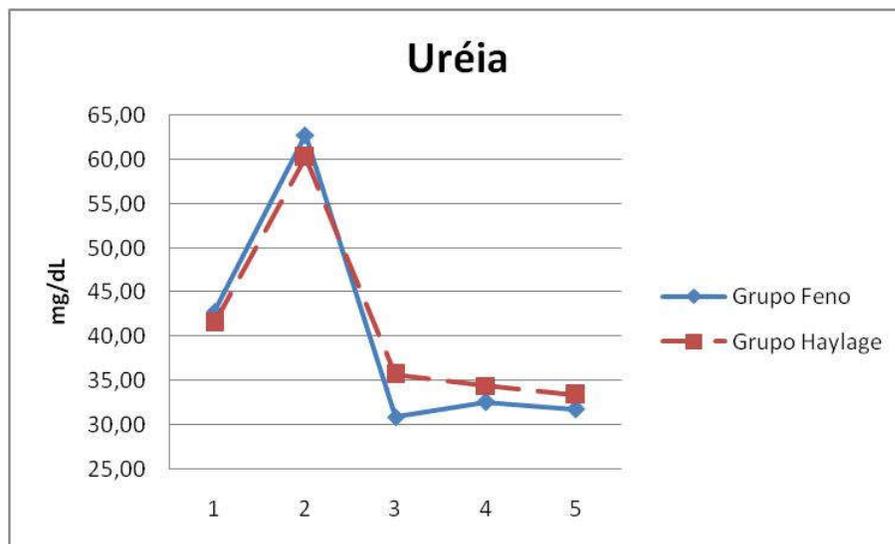


Gráfico 28. Comportamento dos Valores médios de ureia mg/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

A creatinina é formada a partir da condensação e desidratação espontânea de creatinina muscular em uma estrutura anelar. A produção diária de creatinina é relativamente constante, não sendo influenciada por fatores extra renais, como acontece com a uréia (por exemplo, maior ingestão de proteínas) (Thrall et al., 2007).

Apesar de os valores de creatinina terem alterado após a administração das duas dietas, estes estão dentro da faixa de normalidade para equinos, entre 1,6 a 1,68 mg/dL segundo Beaufort Cottage Laboratories (1987/1988).

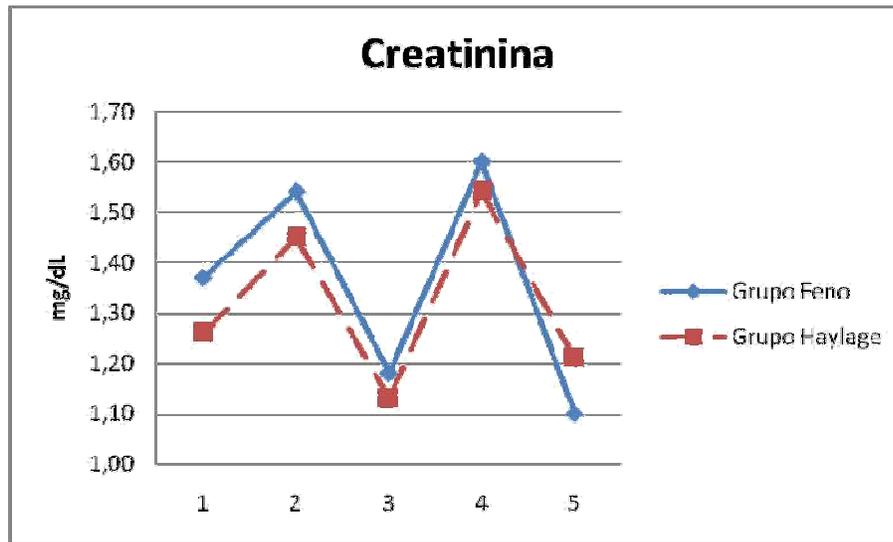


Gráfico 29. Comportamento dos Valores médios de creatinina mg/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

A desidratação do animal e obstruções urinárias também ocasionam aumento destas creatinina (Kaneko et al., 1997). Além do fluxo renal reduzido, o aumento da creatinina no sangue pode ser devido aos danos musculares e exercícios intensos, o que não foi observado uma vez que os animais não foram submetidos a grandes esforços, o que também possibilitaria alterações em outras enzimas específicas de lesões musculares, como a AST, creatinaquinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH).

Portanto, conclui-se tanto a *haylage* como o feno de Tifton-85 não afetaram a função renal destes equinos (Gráfico 29).

### 5.7. Relação Cálcio e Fósforo

A relação Ca/P nos animais estudados se apresentou dentro do esperado em equilíbrio, não havendo alterações fisiológicas significativas destes microminerais, após as dietas fornecidas (feno ou *haylage* de tifton 85) conforme demonstrado na Tabela 13.

O mecanismo de autocontrole da ingestão de minerais em cavalos não é muito eficiente. Dessa forma, acredita-se haver alguma diferença basicamente com relação à ingestão e ao metabolismo do cálcio (Ca) e do fósforo (P) entre os animais criados em

um regime extensivo e os animais criados intensivamente. Na criação extensiva, os animais estão sujeitos à própria regulação do autocontrole de ingestão do mineral disponível e também à ingestão do mineral presente no alimento. Na criação intensiva, os animais são induzidos à ingestão forçada de minerais, uma vez que estão sendo alimentados com concentrados, que encerram níveis determinados, além de terem também, à sua disposição, os minerais presentes nos alimentos verdes e a suplementação da mistura mineral oferecida livremente para a ingestão voluntária (Ramos et al., 2007).

Sabe-se que o Ca é mantido em equilíbrio com o P no sangue por meio da ação do paratormônio, que atua fundamentalmente nos ossos, rins e nos intestinos, em uma ação conjunta com a vitamina D (Mundim, 2008). A ação do paratormônio nos rins é capaz de promover aumento da reabsorção do Ca e redução na reabsorção de fosfatos. Nos ossos, ele estimula a reabsorção, elevando os níveis séricos do Ca e de fosfatos. Esse hormônio também é responsável por um estímulo na formação do 1,25 dihidroxicalciferol, que tem atuação direta, aumentando a eficiência na absorção do Ca (Thrall et al., 2007).

A proporção Ca/P é o fator predominante para determinar a excreção, retenção e absorção de Ca.

Os valores de referência para equinos de cálcio se encontram entre 2,9 a 3,9 mmol/L) e fósforo entre 0,5 a 1,6 mmol/L. E a relação Ca/P encontra-se em torno 0,82 mmol/L segundo Beaufort Cottage Laboratories (1987/1988). Gonzáles et al., encontraram valores de cálcio entre 9,7 a 12,4mg/dL (2,42 a 3,1 mmol/L) e fósforo entre 3,1 a 5,6mg/dL (0,77 a 1,41 mmol/L). E a relação Ca/P em torno de 1,9 a 3,2mg/dL (0,47 a 0,82 mmol/L).

A pesquisa da relação Ca/P é importante para se detectar alguma patologia metabólica como a osteodistrofia fibrosa em equinos (doença da cara inchada), onde o oxalato que se encontra em certas forrageiras, se liga a este mineral, formando o oxalato de cálcio, impedindo sua absorção pelo organismo. Este parâmetro até mesmo pode ser sinal de obstrução intestinal, onde também a absorção de cálcio é afetada.

Todavia, Cunningham (2008) afirmou que cálcio e fósforo séricos não se alteram e portanto, não sendo utilizados como marcadores de reparação óssea.

Foram relatadas alterações bioquímicas e hematológicas em éguas prenhez, confirmando que o Ca é retirado do osso, sem alteração das concentrações no soro sanguíneo. Contudo, a concentração de Ca aumentou na urina do início ao fim da gestação, e o P diminuiu no final da gestação. Estes resultados podem ser decorrentes do crescimento fetal, levando a retirada do Ca sanguíneo materno, para atender as necessidades da formação óssea (Unaniam et al.,1999; Campelo, 2008; Vita et al., 2014).

Tabela 13. Valores médios de Ca/P mg/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

Tempo	Ca	P	Ca/P
	GRUPO FENO	GRUPO FENO	
T0	2,77 Ba	3,38 Aa	0,81 Aa
T1	3,83 Aa	4,29 Aa	0,89 Aa
T2	3,86 Ba	3,78 Aa	1,02 Aa
T3	3,84 Ba	3,84 Aa	1,00 Aa
T4	3,83 Ba	4,21 Aa	0,90 Aa

Tempo	Ca	P	Ca/P
	GRUPO HAYLAGE	GRUPO HAYLAGE	
T0	2,77 Ba	3,55 Aa	0,78 Ba
T1	3,82 Aa	3,52 Ab	1,08 Aa
T2	3,85 Aa	3,64 Aa	1,05 Aa
T3	3,84 Aa	3,71 Aa	1,03 Aa
T4	3,84 Aa	3,81 Aa	1,00 Aa

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos de coleta (coluna) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas), submetidas ao teste Friedman, com  $P < 0,05$  para Ca. Demais variáveis tratadas com teste de Tukey,  $P < 0,05$ .

Os equinos necessitam na dieta fornecida da relação Ca:P de, em média, 1,7:1, sendo 1,4:1 para cavalos em manutenção, 1,8:1 para potros em crescimento, 1,7:1 para éguas prenhes e 1,9:1 para éguas em lactação. Relações menores do que 1:1, em que a concentração de fósforo excede a de cálcio, podem prejudicar a absorção do Ca (*Nutrient...*, 2007).

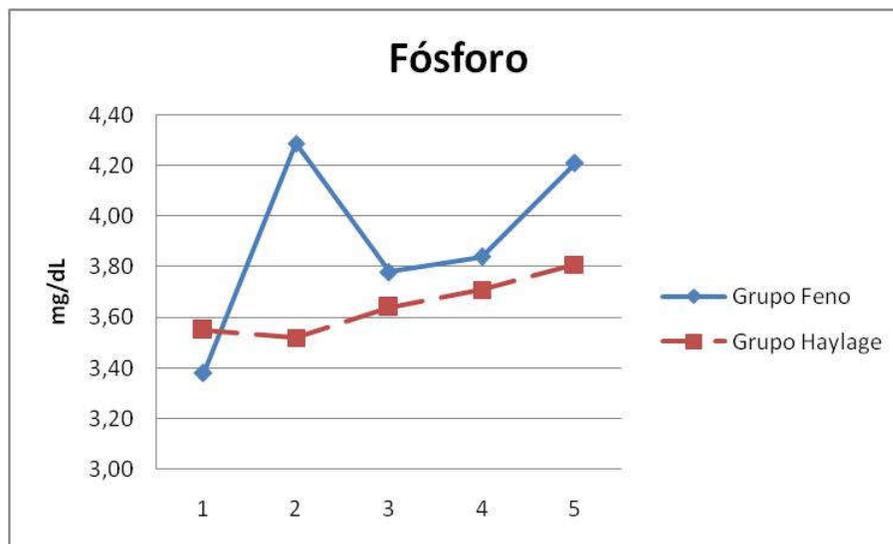


Gráfico 30. Comportamento dos valores médios de P mg/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e haylage de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

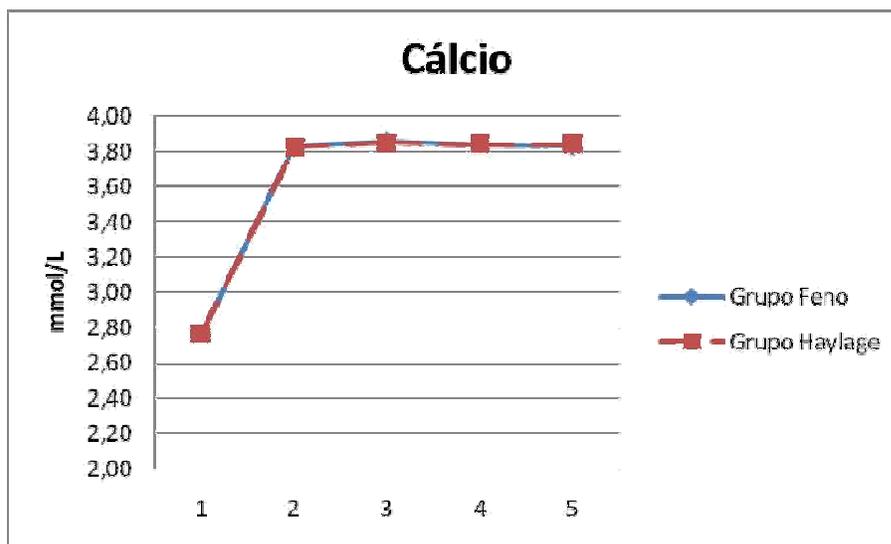


Gráfico 31. Comportamento dos valores médios de Ca mg/dL de equinos após administração de feno (GRUPO FENO) e *haylage* de Tifton-85 (GRUPO HAYLAGE)

## 6. CONCLUSÕES

Conclui-se que os animais após serem alimentados com a forrageira tifton-85 (*Cynodon spp.*) na forma de pré secado com 70% de MS, não apresentaram alterações fisiológicas prejudiciais à saúde, mesmo com o aumento considerável da fosfatase alcalina.

A concentração das micotoxinas (aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona) nesta forrageira foi mínima, abaixo do estabelecido em legislação pertinente tanto na planta recém cortada, quanto na sua forma de pré secado com 56 dias de ensacado, o que revela a sua qualidade de não promover crescimento de fungos por suas características da mudança de pH e presença de ácidos laticos e acéticos quando transformada em *haylage*.

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A forrageira tifton-85 conservada na forma de pré secado (*haylage*), com 70% de MS, mantém a composição nutricional, valor de digestibilidade, digestibilidade proteica e aceitabilidade elevados, também não causando danos à saúde animal, sendo recomendável o fornecimento desta aos animais, no caso deste trabalho, às éguas da raça Quarto de Milha.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFONZO, E.P.M; SILVA, F.B; MEINERZ, C.C; DILDEY, O.D.F; CASTAGNARA, D.D; NERES, M.A. Ocorrência de fungos em fenos de capim Tifton-85 solteiro ou associado a leguminosas anuais de inverno. *XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia – ZOOTEC 2011*. Universidade Federal de Alagoas. 2011a.

ALFONZO, E.P.M; FERNANDES, T.; CASTAGNARA, D.D; NERES, M.A; ZAMBOM, M.A; OLIVEIRA, P.S.R; AMES, J.P; RADIS, A.C. Qualidade microbiológica de silagem de capim Tifton-85 com e sem pré secagem ao sol. *XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia – ZOOTEC 2011*. Universidade Federal de Alagoas. 2011b.

ALMEIDA, M. A. Z.; SILVA, N. M. Determinação dos valores hematológicos normais do cavalo (*Equus caballus*, Linnaeus) da Raça Crioula. *A Hora Veterinária*, v. 15, n. 87, p. 48-50, 1995.

ANDRETTA, I; LOVATTO, P.A; MATOZO, I; TAFFAREL, T.R; LANFERDINI, E. Relação da toxidade individual ou combinada de Aflatoxina e Fumonisina com o desempenho de leitões em creche. *III Seminário: Sistemas de Produção Agropecuário – Zootecnia. UTFPR: Campus Dois Vizinhos*, p. 110– 111, 2009.

BEAUFORT COTTAGE LABORATORIES. *Clinical Pathological Services Offered To The Veterinary Profession*. pp. 24, 10987/1988.

BRANDI, R.A; FURTADO, C.E. Importância nutricional e metabólica da fibra na dieta de eqüinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.38, p. 246-258, 2009.

CARDINET, G.H. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of domestic animals*. 5<sup>th</sup> ed. London: Academic Press, 1997. p.407-440

CAMERA, L; ROSATO, C.K. Intoxicação por *Claviceps purpurea* (Ergotismo) – Revisão bibliográfica. *XVI Seminário Interinstitucional De Ensino, Pesquisa E Extensão. Universidade De Desenvolvimento Regional*. 2011. <http://www.unicruz.edu.br/seminário>. Acessado em: 14 de Novembro de 2014.

CAMPELO, J.A.C.S. Perfil bioquímico sérico de éguas gestantes e não gestantes das raças brasileiro de hipismo e bretão. (Tese Doutorado em Medicina Veterinária). Jaboticabal. 2008.

CARVALHO, R.T.L; HADDAD, C.M. Pastagens e alimentação de eqüinos. Piracicaba: *FEALQ* 1987. 85p.

COPERDIA. TIFTON-85. disponível em: <http://www.coperdia.com.br>. Tópico – alimentação 10/2010. Acesso em 27/05/2014.

CORREA, F.R. Plantas tóxicas e micotoxinas que afetam a reprodução em ruminantes e eqüinos no Brasil. 20º RAIB. *Biológico*, v. 69, n. 2, p. 63– 68. Jul/Dez 2007. São Paulo.

CORREA, F.R; SOARES, M;P; MENDES, M.C. Intoxicação em eqüinos no Brasil. *Ciencia Rural*, v.28, n.4, p. 715 – 722. 1998.

COSTA, M.L.L. Utilização de *Haylage* de Tifton-85 (*Cynodon* spp.) na dieta de Eqüinos. EV/UFGM, 2012. 49p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

DALANHOL, M; BARROS, M. MAZUCHELLI, J; SILVA, P.H; HASHIMOTO, Y; LARGURA, A. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico na determinação de hemograma automatizado. *Revista Brasileira De Hematologia e Hemoterapia*. v.32, n. 1, p.10-15, 2010.

DE VEGA, F; ALALOS, E.B; LOBO, M.O y MAMANI, C.F. Biofísicoquímica del proteinograma em eqüinos aplicado al diagnóstico de anemia infecciosa. Zona de los Valles de La provincia de Jujuy. *Congreso Regional De Ciencia Y Tecnologia / NOA – 2002*. Universidade Nacional de Catamarca, 14 p.

Di FILIPPO, P.A; ALVES, A.E; HERMETO, L.C; SANTANA, A.E. Indicadores bioquímicos séricos e do líquido peritoneal de eqüinos submetidos à obstrução intestinal. *Ciencia Animal*, v. 13, n. 4, p. 504 – 511, 2012.

Di FILIPPO, P.A; NOGUEIRA, A.F.S; ANAI, L.A; ALVES, A.E; SANTANA, A.E; PEREIRA E.; SANTOS G.T. Perfil eletroforético das proteínas séricas e do líquido peritoneal de eqüinos submetidos á obstrução experimental de duodeno, íleo e cólon maior. *Ciência Animal Brasileira*, v. 11, n. 4, p. 938 – 946, 2010.

DIAS, D.C.R. Influência do exercício e da suplementação com vitamina E e Selênio sobre o hemograma, atividade de enzimas marcadoras de lesão muscular e índice de peroxidação de biomoléculas em Cavalos de hipismo clássico submetidos à prova de saltos. (Dissertação de Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos). Universidade Federal da Bahia – Escola de Medicina Veterinária. Salvador. 2008, 120 p.

DILKIN, P; MALLMANN, C.A. Sinais clínicos e lesões causadas por micotoxinas. LAMIC - Laboratório de análises micotoxicológicas da Universidade Federal de Santa Catarina. *Anais do XI Encontro Nacional de Micotoxinas*. Piracicaba. 2004. p. 32-34.

DOMINGUES, J.L. Uso de volumosos conservados na alimentação de eqüinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, supl., p.259-269, 2009.

DUNCAN, J.R; PRASSE, K.W; MAHAFFEY, E.A. Veterinary laboratory medicine: *Clinical Pathology*. 3 th. Iowa State University. 300 p. 1994.

ECKERSALL, P.D. Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions. *Comparative Haematology International*, v.5, p.93-97, 2008.

FAGLARI, J.J.; SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hígidos e de eqüinos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v.54, n. 6., p.559-567, 2002.

FAGLARI, J.J.; SILVA, S.L; SILVA, P.C; PEREIRA, G.T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de eqüinos portadores de abdômen agudo

e submetidos à laparotomia. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v.60, n.2, p.322-328. 2008

FERREIRA, M.A. Estudo da toxicidade do veneno bruto e detoxificado de *Tityus serrulatus* em ovinos produtores de antiveneno. (Tese Doutorado em Ciência Animal). Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2013, 101p.

FERREIRA, R; LACERDA, L; CAMPOS, R; SPERB, M; SOARES, E; BARBOSA, P; GODINHO, E; SANTOS, V. Hematologic and biochemical parameters in three high performance horse breeds from southern Brazil. *Archives of Veterinary Science*, v.11, n.2, p. 40-44. 2006.

FORTES, E. *Parasitologia Veterinária*. 4<sup>a</sup> ed.. São Paulo. Icone, 2004.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S.T.A; VEIGA, A.P.M; MARTINS, D.B.; EMANUELLI, M.P; OLIVEIRA, L.S.S. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos crioulos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, n. 10, p. 1561 – 1565, 2006.

FRAPE, D. *Equine Nutrition and Feeding*. 2<sup>nd</sup> ed., Oxford: Blackwell Science, 1998. 564p.

FREIRE, F.C.O; VIEIRA, I.G.P; GUEDES, M.I.F; MENDES, F.N.P. Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal. Fortaleza: *Embrapa Agroindústria Tropical*, 2007. 48p.

GONÇALES, E; FELICIO, J.D; PINTO, M.M; ROSSI, M.H; NOGUEIRA, J.H.C; MANGINELLI, S. Ocorrência de aflatoxinas M1 em leite comercializado em alguns municípios do estado de São Paulo. *Arquivo do Instituto de Biologia*, v.72, n.4, p. 435 – 438. 2005.

GONZÁLES, 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. *Congresso Brasileiro De Medicina Veterinária*, p. 5–17, 2002.

GONZÁLES, F.H.D; SILVA, S.C. *Introdução á bioquímica clínica veterinária*. Editora UFRGS. 2a edição. Porto Alegre. 2006.

GONZÁLES, F.H.D; SILVA, S.C. *Patologia Clínica veterinária: Texto de apoio ao curso de especialização em análises clínicas veterinárias*. Editora UFRGS. Porto Alegre. 2008.

HARLAND, E.C; CARDEILHARC, P.T. Excretion of carbon 14 labeled aflotoxin B, via bile, urine and intestinal contents of the chicken. *American Journal of Veterinary Review* v. 36, p. 909 – 912, 1975.

HUSSEIN, S.H; BRASEL, J.M. Toxicity, metabolism, and impacto for mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, v.167, n.2, p.101 -134, 2001.

INÁCIO, S.V; BRITO, R.L.L; BRESCIANI, K.D.S. Aspectos epidemiológicos da infecção por *Cryptosporidium* em Equinos. *Acta veterinaria Brasilica*, v.7,n.1, p. 1 - 4. 2013.

JACOMINO, M.R; TRIBUCCI, A.M.O; de SÁ, J.C; BRANDI, R.A; ROCHA, R.A. Influência Parasitária em Equinos. IV Simpósio de Ciências da UNESP-Dracena/ V Encontro de Zootecnia UNESP-Dracena. Dracena, 9-11 Setembro, 2008.

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

JOBIM, C.C; GONÇALVES, G.D; SANTOS, G.T. Qualidade sanitária de grãos e de forragem conservadas versus desempenho animal e qualidade de seus produtos. *Simpósio Sobre Produção e Utilização De Forragens Conservadas*. Maringá, 2001. p.242-261.

KANEKO, J.J; HARVEY, J.W; BRUSS. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*., 5<sup>th</sup> ed. London: Academic Press, 1997, 932 p.

KRAMER, J.W.; HOFFMANN, W.E. *Clinical Enzymology*. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* . 5<sup>th</sup> ed. London: Academic Press, 1997. p.303-325.

KNOWMICOTOXINS. Diagnóstico – Equinos: Aflatoxinas. Acessado em 11 de Setembro, 2014. Disponível em: <http://www.knowmycotoxins.com/pt/vequine2.htm>

KOWAL, R.J; ALMORNY, N.R.P; CASCARDO, B; SUMMA, R.P. Avaliação dos valores hematológicos em cavalos (*Equus caballus*) da raça puro sangue inglês submetidos a teste de esforço em esteira ergométrica. *Revista Brasileira Ciências Veterinária*, v. 13, n. 1, p. 25 – 31. 2006.

KUNG JR., L.; STOUGH, E.C.; McDONELL, E.E.; HOFHERR, M.W.; REICH, L.J.; KLINGERMAN, C.M. The effect of wide swathing on wilting times and nutritive value of alfafa haylage. *Journal Dairy Science*, v.93, n.4, p.1770-1773, 2010.

McFARLANE, D.; SELTON, D.; GAFFNEY, D. Hematologic and serum biochemical variables and plasma corticotrophin concentration in healthy aged horses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 59, n. 10, p. 1247-1251, 1998.

MALLMANN, C.A. et al. Equine leukoencephalomalacia associated with ingestion of corn contaminated with fumonisin B1. *Revista de Microbiologia*, v. 30, p. 249-252, 1999.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Equideos. [www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos](http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos). Acessado: 22/07/2014.

MARTINEZ, A.S.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J.R. Dano causado por *Bipolaris maydis* em *Panicum maximum* cv. Tanzânia. *Ciências Agrárias*, v. 31, n. 4, p. 863-870. 2010.

MATRONE, M; NORONHA, P.B; JUNIOR, K.C; SCHEIBEL. Avaliação de bioquímica sérica em cavalos puro sangue inglês (PSI) submetidos a treinamento de rotina no jockey club de São Paulo – Interferência do treinamento na saúde do equinos atleta. *Revista do Instituto de Ciências da Saúde*, v. 25, n.3, p. 253 – 256. 2007.

MEYER, D.J; COLES, E.H; RICH, L.J. *Medicina De Laboratório Veterinário: Interpretação e Diagnóstico*. Roca. 1995. 308 p. São Paulo.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998. 373 p.

MINAMI, L; MEIRELES, P.G; HIROOKA, E.Y; ONO, E.Y.S. Fumonisin: Efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 25, n.3, p. 207 – 224. 2004. Londrina.

MOLENTO, M.B. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.35, n.6, p.1469-1477, 2005.

MUNDIM, A.V. Perfil bioquímico sérico em potros Bretão Postier e cães Doberman em fase de crescimento e de cabras Saanen nos diferentes estádios de lactação. (Tese Doutorado em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia – Instituto de genética e Bioquímica. 88 p. 2008.

MUNDIM, A.V; TEIXEIRA, A.A; GALO, J.A; CARVALHO, F.S.R. Perfil bioquímico e osmolaridade sanguínea de eqüinos utilizados para trabalho em centros urbanos. *Bioscience Journal*, v. 20, n. 1, p. 135 – 142. 2004.

NETO, J.P.T.; BIZUTTI, O.; OLIVEIRA, M.E.M. Níveis sanguíneos de Calcio, Fosforo, Magnésio, e correlação entre calcemia e fosfatase alcalina, durante prenhez de égua Puro Sangue Inglês (PSI). *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária de São Paulo*, v.8, n.3, p. 675-690, 1971.

NOLETO, P.G. Perfil bioquímico sérico de eqüinos submetidos a provas de esforço físico. (Tese de Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal de Uberlândia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2012.

NUTRIENT requirements of horses, Washington: National Academy Press, 2007,6. Ed, 341p.

PEREIRA, K.C; SANTOS, C.F. Micotoxinas e seu potencial carcinogênico. *Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, Anhanguera educacional LTDA, v. 15, n. 4., 2011.

QUEIROZ, O.C.M.; RABAGLINO, M.B.; ADESOGAN, A.T. Mycotoxins in silage. In: *Internatinal Symposium of Forage Quality and Conservation, 2011*. São Paulo. Piracicaba, São Paulo: FEALQ, 2011, p.105-126.

RAMOS, L.C.V.O; FERREIRA, W.M. GONÇALES, L.C; GAZZINELLI, F.J. Hidroxiprolina e fosfatase alcalina como parâmetros fisiológicos indicadores do *status* metabólico do cálcio e do fósforo eqüino. *Revista Acadêmica*, v. 5, n.4, p. 359 – 368. 2007.

REGO, F.C.A.; CECATO, U.; DAMASCENO, J.C.; RIBAS, N.P.; SANTOS, G.T.; MOREIRA, F.B.; RODRIGUES, A.M. Valor nutritivo do capim – Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq cv. Tanzânia-1) manejado em alturas de pastejo. *Acta Scientiarum*, v. 25, n. 2, p. 363-370. 2003.

REIS, R.A. et al. Valor nutritivo do feno de capim coast-cross (*Cynodon dactylon* L. Pers) submetido à amonização. *Ars Veterinária*, v.19, n.2, p.143-149, 2003.

REIS, R.A; MOREIRA, A.L; PEDREIRA, M.S. Técnicas para produção e conservação de fenos de forrageiras de alta qualidade. *Simpósio Sobre Produção e Utilização De Forragens Conservadas*, 130p, 2001a.

REIS, R.A; SIQUEIRA, G.R; ROTH, M.T.P; ROTH, A.P.T.P. Fatores que afetam o consumo de forrageiras conservadas. *Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas*. 2001b.

RIET-CORREIA, F.; SCHILD, A.L; MÉNDEZ, M. D.; LEMOS, R.A. A.. Doenças de Ruminantes e Equinos. 2<sup>a</sup> ed.. São Paulo. Varela, 2001, v.2, p. 32-146.

SAMPAIO, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. 3.ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007. 264p.

SANTOS, E.L; CAVALCANTI, M.C.A; LIVIA, J.E; MENESES, D.R. Manejo nutricional e alimentar de eqüinos - Revisão. *Revista eletrônica Nutritime*. Artigo 174, v. 9, n.5, p. 1911 – 1943, 2012.

SAQUETTI, C.H.C; FALEIROS, R.R; MARCORIS,D.G; FAGLARI, J.J; SILVA, S.L. Perfil eletroforético do proteinograma do líquido peritoneal de eqüinos com obstrução experimental do cólon menor. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, v.60, n. 4, p.794 – 799. 2008.

SILVA, F.B; VOGT, A.S.L; CASTAGNARA, D.D; NERES, M.A; TAFFAREL, L.E; BATISTA, P.B. Desenvolvimento de fungos em Tifton-85 submetidos a diferentes métodos de desidratação. *VI Congresso Nordestino De Produção Animal*, 2010.

SILVA, J.M.N. Desenvolvimento de microorganismos e valor nutritivo de silagens de capim Tifton-85. (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista. Faculdade de ciências agrárias e veterinária. Jaboticabal. 2002.

SILVEIRA, J.M. Patologia Clínica Veterinária: Teoria e interpretação. Ed. Guanabara S.A. 1ª edição. P. 86 – 97. Rio de Janeiro, 1998.

SMITH, R.; CHAFFIN, M.K.; COHEN, N.D.; et al. Age-related changes in lymphocyte subsets of quarter horse foals. *American Journal of Veterinary Research*, v. 63, n. 4, p. 531-537, 2002.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5<sup>th</sup> ed. London: Academic Press, 1997. p.327-352.

THRALL, M.A; CAMPBELL,T; FETTMAN, M.J; LASSEN, E.D; REBAR, A; WEISER, G. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Rocca, 2007, 582 p. São Paulo.

TEIXEIRA, L.C. Efeitos da Zearalenona em leitões pré-púberes e eficácia de aditivos anti-micotoxinas na prevenção das micotoxicoses. (Tese de Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná. Departamento de Medicina Veterinária. Curitiba. 2010.

UNANIAM, M.M; SILVA, A.E.D.F.; MANZANO, A. Estudo de parâmetros bioquímicos de éguas gestantes Puro Sangue Inglês. *Braz. Arch. Biol. Technol.* Vol.42, nº1. Curitiba. 1999.

USAQUEN, J.N.U; FARIAS, J.A.S. Determinacion de hematocrito (Hto), proteínas plasmáticas totales (ppt) y albumina (Alb) em caballos de salto antes y depues de cada entranamiento em Bogotá. Universidad de La Salle. 2009.

VITA, B.; CAMPOS, L.L; LISTONI, A.J.; MARTIM, I.; TAKAHIRA, R.K; CURCIO, B.R; ALVARENGA, F.C.L.; PRESTES, N.C. Comparação da composição bioquímica do liquido amniótico equino colhido em diferentes estágios gestacionais e no momento do parto. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.34, n.6, 2014.