PATRÍCIA STOCCO BETIOL SCALAMANDRÉ

**Avaliação bioquímica clínica de eqüinos soroprodutores da Fazenda
São Joaquim do Instituto Butantan, submetidos à alimentação com
concentrado comercial ou hiperprotéico**

São Paulo

2006

PATRÍCIA STOCCO BETIOL SCALAMANDRÉ

**Avaliação bioquímica clínica de eqüinos soroprodutores da Fazenda
São Joaquim do Instituto Butantan, submetidos à alimentação com
concentrado comercial ou hiperprotéico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento de:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientadora:

Profa. Dra. Lílian Gregory

São Paulo
2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1772
FMVZ

Scalamandrê, Patrícia Stocco Betiol

Avaliação bioquímica clínica de eqüinos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan, submetidos à alimentação com concentrado comercial ou hiperprotéico / Patrícia Stocco Betiol Scalamandrê. – São Paulo: P. S. B Scalamandrê, 2006.
119 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2006.

Programa de Pós-graduação: Clínica Médica.
Área de concentração: Clínica Médica.

Orientador: Profa. Dra. Lílian Gregory.

1. Concentrado. 2. Proteínas. 3. Eqüinos. 4. Soro anti-diftérico.
I. Título.

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
INSTITUTO BUTANTAN

Av. Vital Brazil, 1500, CEP 05503-900, São Paulo, SP, Brazil
Telefone: (55) (011) 3726-7222 ramal 2106 - Fax: (55) (011) 3726-1505

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para uso de animais em experimentação nº **216/05**, sobre o projeto intitulado "Avaliação da ração concentrada peletizada utilizada pelos cavalos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do IBU", sob a responsabilidade de Lílían Gregory está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO INSTITUTO BUTANTAN (CEUAIB) em reunião de **17/05/2005**.

São Paulo, 18 de maio de 2005.

Dra. Denise V. Tambourgi
Presidente da CEUAIB

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão de Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação clínica de equinos sob produtores do grupo diftérico da fazenda São Joaquim do Instituto Butantã submetidos à alimentação com ração comercial (15% de proteína) hiperprotéica (22% de proteína)", protocolo nº665/2005, utilizando cavalos, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Lillian Gregory, está acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Clinical evaluation of equine sera hyperimmune antidiabetic's production from São Joaquim Farm of Butantã Institute, fed on commercial ration (15% of protein) and high protein ration (22% of protein)", protocol number 665/2005, utilizing 32 horses, under the responsibility of Profa. Dra. Lillian Gregory, agree with Ethical Principles of Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 26 de setembro de 2006

Prof. Dr. José Luiz Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SCALAMANDRÉ, Patrícia Stocco Betiol

Título: Avaliação bioquímica clínica de eqüinos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan, submetidos à alimentação com concentrado comercial ou hiperprotéico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr: _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr: _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr: _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho aos queridos cavalos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan, que sem saber já salvaram a vida de milhares de pessoas e contribuíram em muitas pesquisas. Deixo aqui expresso o profundo amor e carinho que sinto por eles.....

Agradecimentos

Ao Instituto Butantan que permitiu a utilização dos animais para esta pesquisa, e à Fundação Butantan que patrocinou as colheitas de material biológico e o processamento dos mesmos.

Aos meus pais Laércio e Irene e à minha querida irmã Luciana, agradeço o conhecimento que me foi transmitido, à confiança, dedicação e carinho com que fui criada.

Ao meu marido e companheiro Fernando, pelo amor, carinho e especiais incentivo e confiança investidos.

À Professora Dra. LÍlian Gregory, pela orientação, conhecimento transmitido, incentivo e eterna disposição em me ajudar sempre que lhe solicitei.

Ao Professor Dr. Juarez Fernandes Távora, meu mestre e amigo, que me acompanha desde o aprimoramento na Fazenda São Joaquim, tendo um papel primordial na realização deste trabalho, sempre pronto a ajudar e transmitir seu conhecimento.

Ao Professor Dr. Marcos Amaku, pela orientação na análise estatística dos resultados.

À Professora Dr. Maria Cláudia Araripe Sucupira, pela disposição em me ajudar sempre que precisei, pelo conhecimento transmitido durante o PAE, amizade e carinho.

Ao Professor Dr. Enrico Lippe Ortolani, pelo conhecimento transmitido durante o PAE e pela amizade.

À Professora Dra. Alice Maria Della Libera, pela amizade.

Aos Professores Fernando José Benesi e Wilson Roberto Fernandes, pela amizade e conhecimento transmitido.

À querida amiga Andréa Parra (Andréa Mary), pela especial participação na realização deste trabalho, ensinamentos transmitidos como bolsista da Fazenda São Joaquim, amizade e companheirismo.

Aos amigos da Fazenda São Joaquim: Ronaldo Ferreira Rodrigues, Anandra Rodrigues, Veridiana Nadruz e aos funcionários da Fazenda que foram de grande ajuda na colheita de material para o experimento.

À amiga Maiara, pelos momentos divertidos em disciplinas da pós-graduação e amizade.

Ao Tio Chico, pela eterna disposição em ajudar e amizade.

Aos amigos Sandra Kitamura e João Paulo Sault, que ajudaram na elaboração deste trabalho.

Aos colegas de pós-graduação: Clarisse, Barreto, Fábio, Taís e Fernanda pelo convívio durante a pós-graduação.

Às queridas funcionárias dos laboratórios Clara, Marli e Cláudia: pela ajuda e ensinamentos imprescindíveis para a realização deste trabalho e, principalmente pela amizade e carinho.

Às secretárias do departamento de Clínica Médica: Adelaide, Cida e Patrícia pela simpatia e disposição em ajudar.

À CAPES pela concessão da bolsa.

RESUMO

SCALAMANDRÉ, P. S. B. **Avaliação bioquímica clínica de eqüinos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan, submetidos à alimentação com concentrado comercial ou hiperprotéico.** [Clinical biochemical evaluation of serum-producing horses on São Joaquim Farm of Butantan Institute, fed commum concentrated or high-protein concentrated]. 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Para determinar se o concentrado com 22% de proteína bruta fornecido na alimentação dos eqüinos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan no Estado de São Paulo é adequado, ou causa sobrecarga hepática e renal nos animais podendo alterar sua performance e recuperação, foram avaliados os seguintes parâmetros de um grupo de cavalos produtor de soro antidiftérico: os pesos e as concentrações séricas de AST, GGT, bilirrubinas (total, direta e indireta), proteína total, albumina, globulina total, relação albumina/globulina, uréia, creatinina, colesterol, triglicérides, ferro e transferrina. Este grupo compreendeu 32 animais e foi distribuído em dois sub-grupos de 16: um sub-grupo composto de animais alimentados com concentrado com 22% de proteína bruta, e o outro de animais alimentados com concentrado com 15% de proteína bruta. As amostras de sangue dos cavalos foram colhidas antes das inoculações de antígeno, antes das sangrias de produção e 15, 30 e 45 dias após a última sangria. A pesquisa durou dois ciclos de produção. A avaliação dos resultados das variáveis baseou-se na comparação entre os grupos e na análise dos efeitos das imunizações e sangrias de produção nos animais. Exceto o peso, todos os parâmetros avaliados sofreram alterações durante o processo de produção de plasma-hiperimune, evidenciadas através do aumento e/ou diminuição em seus valores. A análise entre os grupos avaliados demonstrou em determinados momentos da pesquisa o aumento das concentrações das bilirrubinas total ($p<0,006$), direta ($p<0,034$) e indireta ($p<0,015$) e uréia ($p<0,000$) do grupo alimentado com ração com 22% de proteína bruta em relação ao grupo alimentado com 15% de proteína bruta. A pesquisa proposta permitiu concluir que, apesar de terem ocorrido significâncias para determinados momentos e variáveis entre os grupos alimentados com o concentrado com 15% e 22% de proteína bruta, elas não foram suficientes para afirmar se o concentrado com 22% de proteína bruta, causa sobrecarga hepática e renal nos animais, e que os dois grupos de animais avaliados

durante a pesquisa apresentaram respostas semelhantes com relação à performance produtiva e recuperação orgânica dos ciclos de produção.

Palavras-chave: Concentrado. Proteínas. Eqüinos. Soro anti-diftérico.

ABSTRACT

SCALAMANDRÉ, P. S. B. **Clinical biochemical evaluation of serum-producing horses on São Joaquim Farm of Butantan Institute, fed commum concentrated or high-protein concentrated.** [Avaliação bioquímica clínica de eqüinos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan, submetidos à alimentação com concentrado comercial ou hiperprotéico]. 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

In order to determine whether the concentration enriched with 22% of crude protein used to feed the serum-producing horses on São Joaquim Farm of Butantan Institute in State of São Paulo is good for them or cause damage to their liver and kidney, causing changing in their productive performance and organic recovery, were screened the following parameters of a group of serum hyperimmune anti-diphtheric production horses: their weight, the serum concentrations of AST, GGT, total; direct and indirect bilirubins, total serum proteins, albumin, total globulins, the albumin/globulin ratio, the concentrations of urea, creatinine, cholesterol, triglycerides, iron and transferrin. The group was composed of 32 animals and split into two other groups of 16 animals: one group was fed the concentration enriched with 22% of crude protein, and the other group of animals was fed the concentration enriched with 15% of crude protein. The horses blood samples were obtained before the antigen inoculation, before the bleeding of production and with a delayed of 15, 30 and 45 days after the last bleeding. The research lasted two imunization periods. The variables results were analized between the groups and based on the effect of immunization and bleeding production on the animals. All parameters evaluated endured changes during the hyperimmune plasma production showed by the increase or reduction of their values excluding the weight. The analysis between groups determined significant increase in concentrations of total bilirubin ($p < 0,0006$), direct bilirubin ($p < 0,034$), indirect bilirubin ($p < 0,015$) and urea ($p < 0,000$), in especific moments in the group that was fed the concentration enriched with 22% of crude protein in comparison with the group that was fed the concentration enriched with 15% of crude protein. It is concluded that there isn't possible to prove that the concentration enriched with 22% of crude protein cause damage to the liver and kidney to the animals and that the rations had similar behavior in relation to the performance and organic recovery of serum-producing horses.

Key words: Concentration. Protein. Horses. Anti-diphtheric serum.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Representação dos intervalos de tempo relacionados ao processo de produção de plasma-hiperimune dos cavalos soroprodutores dos grupos A e B.....	43
Quadro 2-	Representação dos momentos referentes à inoculação de antígeno, sangria de produção, descanso e colheita de sangue dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, durante a primeira e segunda fase da pesquisa.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Porcentagem de concentrado, feno e proteína bruta requeridos na dieta de cavalos e pôneis.....	29
Tabela 2-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de aspartato-aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006.....	54
Tabela 3-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de aspartato-aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	57
Tabela 4-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de bilirrubina total (BD), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006.....	61
Tabela 5-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de bilirrubina total (BD), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	65
Tabela 6-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de proteína total (PT) e albumina (Alb) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006.....	68
Tabela 7-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de globulina total (Glo) e da relação albumina/globulina (Alb/Glo) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006....	71
Tabela 8-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de proteína total (PT) e albumina (Alb) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	74
Tabela 9-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de globulina (Glo) e da relação albumina/globulina (Alb/Glo) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	77
Tabela 10-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de colesterol (Col) e triglicérides (Tgl) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006.....	80

Tabela 11-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de colesterol (Col) e triglicérides (Tgl) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	83
Tabela 12-	Valores médios, desvio padrão e mediana de uréia e creatinina (Crea) dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006.....	86
Tabela 13-	Valores médios, desvio padrão e mediana de uréia, uréia nitrogenada e creatinina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	89
Tabela 14-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de ferro (Fe) e transferrina (Trf) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006.....	92
Tabela 15-	Valores médios, desvio padrão, e mediana de ferro (Fe) e transferrina (Trf) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	95
Tabela 16-	Valores médios, desvio padrão, e mediana dos pesos dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase, São Paulo, 2006.....	97
Tabela 17-	Valores médios, desvio padrão, e mediana dos pesos dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase, São Paulo, 2006.....	99

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1-	Variação das médias das concentrações de AST dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	52
Gráfico 2-	Variação das médias das concentrações de GGT dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase	53
Gráfico 3-	Variação das médias das concentrações de AST dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase	55
Gráfico 4-	Variação das médias das concentrações de GGT dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase	56
Gráfico 5-	Variação das médias das concentrações de bilirrubina total dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase	58
Gráfico 6-	Variação das médias das concentrações de bilirrubina direta dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase	59
Gráfico 7-	Variação das médias das concentrações de bilirrubina indireta dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	60
Gráfico 8-	Variação das médias das concentrações de bilirrubina total dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	62
Gráfico 9-	Variação das médias das concentrações de bilirrubina direta dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	63
Gráfico 10-	Variação das médias das concentrações de bilirrubina indireta dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	64
Gráfico 11-	Variação das médias das concentrações de proteína total dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	66

Gráfico 12-	Variação das médias das concentrações de albumina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	67
Gráfico 13-	Variação das médias das concentrações de globulina total dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	69
Gráfico 14-	Variação das médias da relação albumina/globulina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	70
Gráfico 15-	Variação das médias das concentrações de proteína total dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	72
Gráfico 16-	Variação das médias das concentrações de albumina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	73
Gráfico 17-	Variação das médias das concentrações de globulina total dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	75
Gráfico 18-	Variação das médias da relação albumina/globulina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	76
Gráfico 19-	Variação das médias das concentrações de colesterol dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	78
Gráfico 20-	Variação das médias das concentrações de triglicérides dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	79
Gráfico 21-	Variação das médias das concentrações de colesterol dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	81
Gráfico 22-	Variação das médias das concentrações de triglicérides dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	82
Gráfico 23-	Variação das médias das concentrações de uréia dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	84

Gráfico 24-	Variação das médias das concentrações de creatinina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	85
Gráfico 25-	Variação das médias das concentrações de uréia dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	87
Gráfico 26-	Variação das médias das concentrações de creatinina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	88
Gráfico 27-	Variação das médias das concentrações de ferro dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	90
Gráfico 28-	Variação das médias das concentrações de transferrina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	91
Gráfico 29-	Variação das médias das concentrações de ferro dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	93
Gráfico 30-	Variação das médias das concentrações de transferrina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	94
Gráfico 31-	Variação das médias de peso dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase.....	96
Gráfico 32-	Variação das médias de peso dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase.....	98

LISTA DE ABREVIACÕES

Alb - Albumina

Alb/Glo - Albumina/globulina

AST - Aspartato-aminotransferase

BD - Bilirrubina direta

BI - Bilirrubina indireta

BT - Bilirrubina total

Crea - Creatinina

Col - Colesterol

EUA – Estados Unidos da América

Fe - Ferro

G - Gravidades

g/L - Gramas por litro

GGT - Gama-glutamilttransferase

Glo - Globulina total

IFCC – International Federation Clinical Chemistry

IM - Intramuscular

Kg – Quilograma

μmol/L - Micromol por litro

nm – Nanômetro

NRC – National Research Council

PB - Proteína bruta

pH - Potencial hidrogênio iônico

PT - Proteína total

SAD - Soro anti-diftérico

Tgl - Triglicérides

Trf - Transferrina

U/L – Unidades internacionais por litro

LISTA DE SÍMBULOS

α - Alfa

β - Beta

γ - Gama

® - Marca registrada

$\pm$ - Mais ou menos

< - Menor

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	24
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	26
2.1	SORO ANTI-DIFTÉRICO.....	26
2.2	HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE SORO-HIPERIMUNE	27
2.3	PROTEÍNA NA DIETA	28
2.4	BIOQUÍMICA CLÍNICA E AVALIAÇÕES LABORATORIAIS	32
2.4.1	Função hepática.....	32
2.4.1.1	Aspartato-aminotransferase (AST)	32
2.4.1.2	Gama-glutamilttransferase (GGT)	33
2.4.1.3	Bilirrubina total, direta e indireta.....	33
2.4.1.4	Proteína total.....	34
2.4.1.5	Albumina	34
2.4.1.6	Globulina total.....	35
2.4.1.7	Relação albumina/globulina	35
2.4.1.8	Colesterol.....	35
2.4.1.9	Triglicérides	36
2.4.2	Função renal.....	36
2.4.2.1	Uréia e creatinina	36
2.4.3	Ferro e transferrina	37
2.4.4	Avaliações bioquímicas: em eqüinos alimentados com diferentes teores de proteína bruta e em cavalos soroprodutores	38
3	MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1	MANEJO NUTRICIONAL DOS ANIMAIS	41
3.2	MANEJO SANITÁRIO	41
3.3	SELEÇÃO DOS ANIMAIS	42
3.4	GRUPOS EXPERIMENTAIS	42
3.5	PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DE PLASMA-HIPERIMUNE	42
3.6	COLHEITA DAS AMOSTRAS DE SANGUE PARA AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	43
3.7	ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE SORO	45
3.7.1	Função hepática	45
3.7.1.1	Determinação da atividade sérica de aspartato-aminotransferase	45
3.7.1.2	Determinação da atividade sérica de gama-glutamilttransferase.....	45
3.7.1.3	Dosagem de bilirrubinas	46
3.7.1.4	Determinação dos teores séricos de proteína total	46
3.7.1.5	Determinação dos teores séricos de albumina.....	46
3.7.1.6	Determinação dos teores séricos de globulina total.....	47
3.7.1.7	Determinação da relação albumina/globulina	47
3.7.1.8	Determinação dos teores séricos de colesterol	47
3.7.1.9	Determinação dos teores séricos de triglicérides.....	47
3.7.2	Função renal	48
3.7.2.1	Determinação dos teores séricos de uréia	48
3.7.2.2	Determinação dos teores séricos de creatinina.....	48
3.7.3	Determinação dos teores séricos de ferro e transferrina	48
3.7.4	Determinação do peso	49

3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
4	RESULTADOS	51
4.1	FUNÇÃO HEPÁTICA	51
4.1.1	Aspartato-aminotransferase e gama-glutamyltransferase.....	51
4.1.2	Bilirrubina total, direta e indireta	58
4.1.3	Proteína total, albumina, globulina total e relação albumina/globulina.....	66
4.1.4	Colesterol e triglicérides.....	78
4.2	FUNÇÃO RENAL	84
4.2.1	Uréia e creatinina	84
4.3	FERRO E TRANSFERRINA	90
4.4	PESO	96
5	DISCUSSÃO	100
5.1	FUNÇÃO HEPÁTICA	100
5.1.1	Aspartato-aminotransferase.....	100
5.1.2	Gama-glutamyltransferase	101
5.1.3	Bilirrubina total	102
5.1.4	Bilirrubina direta	102
5.1.5	Bilirrubina indireta.....	103
5.1.6	Proteína total.....	103
5.1.7	Albumina	104
5.1.8	Globulina total	104
5.1.9	Relação albumina/globulina	105
5.1.10	Colesterol.....	105
5.1.11	Triglicérides	106
5.2	FUNÇÃO RENAL	107
5.2.1	Uréia	107
5.2.2	Creatinina	108
5.3	FERRO E TRANSFERRINA	108
5.4	PESO	109
6	CONCLUSÕES	111
	REFERÊNCIAS	112
	ANEXOS	117

1 INTRODUÇÃO

Aos cavalos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan é fornecido um concentrado com teor de 22% de proteína bruta (PB), pois alguns pesquisadores do Instituto acreditam que, administrando um concentrado hiperprotéico, estes animais apresentariam uma performance maior na produção de anticorpos e melhor recuperação após os ciclos de imunização, em comparação com os concentrados comerciais de manutenção que contêm em torno de 15% de PB.

São de grande relevância os estudos comprovando que a quantidade de proteína ingerida em excesso com relação ao requerimento do animal não é aproveitada, sendo desaminada pelo fígado para a formação de uréia, que posteriormente é excretada pelos rins (FRAPE, 1986). Quanto mais proteínas ingeridas acima das exigências do animal, maior será o fluxo sanguíneo nestes órgãos. A perfusão renal prolongada decorrente de um consumo protéico excessivo crônico, diminui a eficiência da função renal no homem e em algumas espécies animais. E a redução da função renal, leva à redução na capacidade de excretar uréia. Situações de deficiência hepática levam à diminuição na capacidade do órgão de converter amônia em uréia, ocorrendo um acúmulo de amônia no organismo (LEWIS, 2000). A uréia circulante não é tóxica para os cavalos, mas a amônia é extremamente tóxica e, quando em excesso, causa uma série de alterações nos animais (MEYER et al., 1992).

Os eqüinos da Fazenda São Joaquim, após anos de sucessivas imunizações, apresentam algum grau de disfunção hepática, pois é comum, à necropsia, observar-se hemorragia na cavidade abdominal devido à ruptura do fígado.

Os cavalos soroprodutores, após repetidas imunizações, apresentam depósito de substância amilóide predominantemente em órgãos como o fígado e o baço e, em menor frequência, nas glândulas adrenais e nos rins. Em muitos casos, estes animais apresentam ruptura de fígado resultante da textura friável adquirida em decorrência da deposição de amilóide (ABDELKADER et al., 1991; KAMPL et al., 1995). Portanto, esta categoria de animais necessita de uma dieta balanceada com adequada concentração de proteínas para não determinar sobrecarga funcional hepática e renal.

Os trabalhos compulsados na literatura, relacionados a teores protéicos na dieta de eqüinos, enfocam principalmente cavalos que praticam esporte. Não foram encontrados estudos enfocando exigências protéicas em cavalos soroprodutores. É também escassa a literatura que avalia parâmetros bioquímicos em animais utilizados na produção de plasma-

hiperimmune. Dentro deste contexto, é iminente a necessidade da realização de pesquisas que elucidem esta questão, principalmente com a espécie equina que é amplamente utilizada para a soroprodução.

O presente estudo objetivou avaliar se o concentrado com teor de 22% de PB fornecido aos equinos soroprodutores do Instituto Butantan é adequado, ou causa sobrecarga hepática e renal nos animais, alterando sua performance produtiva, como também as possíveis alterações das variáveis avaliadas durante o processo de produção de plasma-hiperimmune. Para tanto, foram acompanhados dois ciclos de imunização e descanso dos cavalos produtores de soro antidiftérico previamente distribuídos em dois grupos: um sendo alimentado com concentrado comercial (com 15% de PB) e o outro alimentado com concentrado hiperprotéico (com 22% de PB). O acompanhamento destes animais consistiu em sua pesagem e na determinação das concentrações de aspartato-aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), bilirrubinas (total, direta e indireta), proteína total, albumina, globulina total, relação albumina/globulina, uréia, creatinina, colesterol, triglicérides, ferro e transferrina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Com a finalidade de demonstrar a importância da produção de soros-hiperimunes, especificamente o soro-antidiftérico, segue-se uma breve revisão sobre a sua utilização e respectivo histórico. Só posteriormente se inicia uma revisão sobre o emprego de proteína bruta na dieta de animais (principalmente eqüinos), bem como a sua relação com as variáveis avaliadas no transcorrer da pesquisa e o processo de produção de plasma-hiperimune.

2.1 SORO ANTI-DIFTÉRICO

A difteria é uma doença transmissível aguda, toxi-infecciosa, de grande importância na espécie humana, que acomete principalmente crianças com até 10 anos de idade e é causada pelo bacilo *Corynebacterium diphtheriae*, que se aloja freqüentemente nas tonsilas, faringe, laringe e nariz. Este bacilo produz uma toxina que ocasiona principalmente alterações cardíacas, rinite, laringite e, menos freqüentemente, alterações em olhos, ouvidos e pele (LONGO, 1991). Trata-se de uma enfermidade endêmica em diversos países da África, na Índia, e em outras regiões tropicais, possivelmente devido à baixa cobertura vacinal em algumas faixas etárias, e dificuldades operacionais de imunização em países de dimensões continentais como por exemplo, o Brasil. Apesar do crescente aumento no uso da vacina antidiftérica, a incidência da doença no Brasil ainda é alta, apresentando em torno de 300 casos confirmados por ano. A letalidade esperada varia de 5 a 10%, atingindo 20% em determinados casos (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2004).

O tratamento consiste na terapia com o soro anti-diftérico (SAD) e antibióticos (LONGO, 1991). A terapia com SAD é de grande importância para a recuperação dos pacientes acometidos pela doença, e a proteção conferida pelo SAD é temporária e de curta duração, em média duas semanas. A doença normalmente não confere imunidade permanente, devendo o doente ser submetido a um esquema de vacinação após alta hospitalar (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2004). A vacinação da população é a única medida isolada que pode influenciar a incidência desta enfermidade (LONGO, 1991). Como a utilização do soro é de grande importância no tratamento desta doença, muitas pesquisas e investimentos em sua produção têm sido realizados.

2.2 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE SORO-HIPERIMUNE

O desenvolvimento da Microbiologia e da Imunologia entre os séculos XIX e XX revolucionou o tratamento de indivíduos que sofriam acidentes ofídicos. Os estudos científicos nestas duas áreas ampliaram o conhecimento humano, propiciando que novas pesquisas fossem nelas desenvolvidas (WEN, 2003).

Sewall¹ (1887 apud CHIPPAUX; GOYFFON, 1998) foi um dos responsáveis pelos primeiros registros de imunização de animais com fins terapêuticos. Ele imunizou pombos com o veneno de cascavel anã (*Sistrurus cetenatus*) e posteriormente desafiou-os com este veneno, e as aves sobreviveram. Segundo Cardoso et al. (2003), várias espécies de animais foram testadas para a produção de soro, com diversos protocolos de imunização, mas foi Vital Brasil que finalmente passou a utilizar a espécie eqüina nos protocolos de imunização, principalmente para a produção de anti-soros no tratamento de acidentes ofídicos.

Em 1901, Vital Brasil desenvolveu no Brasil o soro anti-bubônico para controlar a epidemia de Peste Bubônica que acometia nosso país e o mundo. Desde então, o Instituto Butantan tornou-se referência na produção de soros-hiperimunes, e tal especialização exigiu conhecimentos básicos e aplicados de biologia, bacteriologia, e imunologia (RAW et al., 1991).

A escolha da espécie eqüina para a produção de soros-hiperimunes foi baseada em sua docilidade e em detalhes técnicos, como: a) o modo uniforme de reagir aos antígenos inoculados, b) a inserção longa e superficial das veias jugulares, facilitando as sangrias; c) a grande volemia que o eqüino apresenta (até 11% de seu peso) e, d) o pequeno grau de toxicidade de sua albumina sérica (BRAGA, 1943).

Os eqüinos destinados para a produção de soro não podem, ser nem muito jovens nem muito velhos, sendo a faixa etária ideal para este serviço fixada entre 6 e 12 anos de idade e devendo estes animais pesar no mínimo 400 kg. Os animais utilizados para a produção de plasma-hiperimune necessitam gozar de saúde plena. Constatada a sua higidez, eles estão aptos para a produção (BRAGA, 1943). Aprovados para a formação dos grupos de serviço, esses animais recebem o antígeno, associado ao adjuvante Marcol, Montanide e Twin 80 ou a Emulsão Múltipla Completa-EMC (água, óleo e Bacilos Calmette e Guérin), estimulando a resposta das células auxiliaadoras dos macrófagos nas primeiras imunizações e nas demais. O adjuvante é posteriormente substituído pela associação da Emulsão Múltipla

¹ SEWALL, H. Experiments on the preventive inoculation of rattlesnake venom. *Journal of Physiology*. 8: 203-210, 1887.

Incompleta-EMI (água e óleo) e depois PBS ou Salina, sendo inoculado por via subcutânea (TIZARD, 1998). Após determinado número de imunizações, os eqüinos soroprodutores são submetidos às sangrias de produção para a obtenção do plasma-hiperimune, que nos laboratórios do Instituto Butantan sofre processos biotecnológicos até sua transformação em soro-hiperimune (RAW et al., 1991).

2.3 PROTEÍNA NA DIETA

A idade, gestação, lactação, e a atividade do eqüino são considerações muito importantes para a determinação das exigências protéicas destes animais (GALVÃO et al., 2004). Um cavalo adulto pesando aproximadamente 400 kg necessita para a sua manutenção uma ingestão diária em torno de 7,2% de proteína bruta (KLINE, 2004; National Research Council, 1989) demonstrada na tabela 1. A indústria de alimentos tem fornecido, através do concentrado, um teor em torno de 12% a 15% de proteína bruta, excedendo os valores recomendados pela National Research Council - NRC (GRAHAM-THIERS et al., 2003; HOUSEHOLDER, 1996; REY et al., 2001). Estudos realizados por Gallagher et al. (1992), demonstraram que os eqüinos da região do Michigan nos Estados Unidos da América (EUA) têm ingerido uma concentração de proteínas nos concentrados comerciais acima do preconizado pela NRC. Na região da Carolina do Norte também nos EUA, realizou-se outro estudo demonstrando que em torno de 70% dos cavalos desta região estavam sendo alimentados com um excesso de proteínas fornecidas em concentrados comerciais (SOUTHWOOD et al., 1993).

Existe grande preocupação por parte de pesquisadores com relação aos efeitos adversos que os altos níveis de proteína na dieta podem ocasionar (HINTZ, 1994).

Tabela 1 - Porcentagem de concentrado, feno e proteína bruta requeridos na dieta de cavalos e pôneis (KLINE, 2004)

	Concentrado (%)	Feno (%)	Proteína Bruta (%)
Cavalos adultos			
Manutenção	0	100	7,2
Garanhão	30	70	8,6
Fêmeas prenhes			
9 meses	20	80	8,9
10 meses	20	80	9,0
11 meses	30	70	9,5
Fêmeas lactentes			
Potros até 3 meses	50	50	12,0
Potros de 3 meses ao desmame	35	65	10,0
Cavalos de trabalho			
Trabalho leve ^a	35	65	8,8
Trabalho moderado ^b	50	50	9,4
Trabalho intenso ^c	65	35	10,3
Potros em crescimento			
Desmame até 4 meses	70	30	13,1
Desmame até 6 meses			
Crescimento moderado	70	30	13,0
Crescimento rápido	70	30	13,1
Acima de 12 meses			
Crescimento moderado	60	40	11,3
Crescimento rápido	60	40	11,3
Acima de 18 meses			
Sem treinamento	45	55	10,1
Em treinamento	50	50	10,8

^aCavalos de trabalho leve: passeio e equitação. ^bCavalos de trabalho moderado: trabalho em fazenda, salto. ^cCavalos de trabalho intenso: pólo, corrida. Valores assumindo o concentrado na alimentação contendo 3,3 Mcal/kg e o feno contendo 2,00 Mcal/kg de matéria seca.

Durante o processo de digestão das proteínas, os aminoácidos são convertidos em amônia pela flora bacteriana intestinal, sendo a amônia posteriormente transportada para o fígado onde é convertida em uréia. O excesso de proteína na dieta leva a um aumento da concentração de uréia no plasma do animal e, conseqüentemente, aumento do gasto de energia para sua eliminação (FRAPE, 1986).

Animais com enfermidade hepática necessitam de uma dieta com energia e proteína em quantidade e qualidade adequadas para favorecer o processo de regeneração do órgão. A

proteína fornecida a estes animais não deve exceder os valores diários de manutenção para não determinar sobrecarga hepática (RALSTON, 1990) e a qualidade e características dos aminoácidos fornecidos na dieta é de extrema importância para a recuperação do fígado, sendo recomendado o fornecimento de aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina) que não necessitam passar pelo fígado para serem metabolizados, tornando-se disponíveis para a síntese de proteínas (MARCHESINI et al., 2005), além de diminuir a gênese de amônia na circulação (CHARLTON, 2003).

Com relação a enfermidades renais, a restrição de proteína e fósforo na dieta melhora a qualidade de vida em seres humanos e animais com falência renal crônica, retardando a progressão da doença (HOLM; SOLLING, 1996; LENTINE; WRONE, 2004; MARONI; MITCH, 1997; RALSTON, 1990). Um experimento realizado por Iwasaki et al. (1986), avaliando camundongos com nefropatia crônica, demonstrou que a restrição de proteínas na dieta retardou a evolução da doença.

Segundo Miller e Lawrence (1988), dietas com concentrações altas de proteína levam à utilização de grande energia para excreção do nitrogênio em excesso. A energia gasta com a síntese e excreção da uréia, compete com a energia que é gasta durante o exercício pelo equino atleta.

O excesso de proteína na alimentação leva ao aumento do requerimento de água para a excreção de nitrogênio e amônia, e conseqüente aumento na diurese (MEYER, 1995), sendo inadequado principalmente para animais que praticam enduro, pois estes suam profusamente e urinam menos para conservar a água do corpo (HOUSEHOLDER, 1996). Householder (1996), afirma também que o alto nível de amônia no trato digestivo, sangue e eventualmente músculos pode levar ao aumento da sudorese, desidratação e fadiga.

Dietas com excesso de proteína levam a uma maior produção de uréia e ácidos, o que é prejudicial para animais que se exercitam muito, levando a fadiga precoce (GRAHAM-THIERS et al., 2000), além de apresentar efeito adverso no seu controle térmico (OTT, 2005).

Ott (2005) sugere, ao invés de aumentar as concentrações de proteína bruta na dieta de equinos, que esta seja incrementada com a adição de aminoácidos essenciais, como lisina e treonina.

Miller e Lawrence (1988) afirmam que a proteína não é uma eficiente fonte de energia e possui em equinos, efeito negativo sobre o metabolismo do glicogênio. Patterson et al. (1985) realizaram um estudo com cavalos de corrida, alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta, avaliando-os durante o treinamento, e

concluíram que não existem evidências consistentes da necessidade de suplementação de proteínas, na urina e no sangue dos equinos que realizam atividades físicas. Além disso, segundo a NRC (1989), o fornecimento de dietas com alta concentração de proteína não é vantajoso para estes animais.

A influência do exercício no requerimento nutricional de cavalos depende da intensidade do exercício, de sua duração e do tamanho do animal. O exercício aumenta o gasto de energia no cavalo, porém não tem efeito direto na necessidade de suplementação de outros nutrientes com exceção de água e sal que são perdidos através da transpiração (OTT, 1995). Segundo Freeman et al. (1988), a quantidade de proteínas disponível não afeta o desempenho de atletas durante o exercício.

Éguas em final de gestação e início de lactação, e potros em fase de crescimento requerem concentrações maiores de proteína na dieta em comparação com outros equinos. Exceto os animais nestas condições fisiológicas específicas, os outros, incluindo os que realizam exercícios físicos, apresentam requerimento de baixos níveis de proteína, cálcio e fósforo na alimentação (KLINE, 2004; OTT, 1995).

Muitos trabalhos têm sido realizados com outras espécies animais com relação a altos níveis de proteína na dieta e seus efeitos. Fau et al. (1988), avaliaram ratos alimentados com dietas contendo altos teores de proteína durante dois anos. Os animais foram distribuídos em dois grupos: um grupo sendo alimentado com dieta contendo 10% de PB e o outro com dieta contendo 50% de PB. Ao final de dois anos de experimento, os animais foram eutanasiados observando-se: que os animais que ingeriram a dieta com 50% de PB apresentaram altas concentrações de uréia hepática e hipertrofia renal. Nenhum animal apresentou enfermidade aparente ou veio a óbito durante a fase experimental.

Baseado neste estudo realizado por Fau et al. (1988), Bovée (1991) avaliou cães alimentados com diferentes teores de PB. Ele extirpou experimentalmente parte dos rins destes animais, e os distribuiu em 4 grupos alimentando-os com rações contendo: 54%, 26%, 18% e 8% de PB, denominados respectivamente como grupos A, B, C e D. O estudo teve duração de 50 dias. Neste período determinou-se o nitrogênio uréico plasmático, a taxa de filtração glomerular e a perfusão renal. O autor concluiu que as concentrações de nitrogênio uréico, as taxas de filtração glomerular e a perfusão renal foram significativamente menores nos grupos C e D quando comparados aos grupos A e B.

Durante 6 meses, Adeola e Young (1988), avaliaram suínos divididos em dois grupos: um foi alimentado com dietas contendo 13% de PB e o outro alimentado com dietas com 21% de PB. Ao final da pesquisa, estes pesquisadores observaram no grupo que

consumiu a dieta com 21% de proteína, um aumento do consumo de oxigênio muscular, levando ao aumento respiratório global (em todo o corpo) conseqüentemente aumentando da produção de calor, e levando a um aumento no gasto de energia. Outro estudo realizado por Hansen e Lewis (1993) com suínos alimentados com altos teores de proteína, também demonstrou o aumento na produção de calor pelos animais que ingeriram altas concentrações de proteína.

2.4 BIOQUÍMICA CLÍNICA E AVALIAÇÕES LABORATORIAIS

As provas bioquímicas realizadas no soro sangüíneo dos animais domésticos constituem uma excelente ferramenta no auxílio do diagnóstico de inúmeras enfermidades, destacando-se aquelas com sede ou repercussões sobre o fígado e/ou rins, que podem alterar as funções destes órgãos. Para a avaliação da função hepática ou detecção de lesões neste órgão sugerem-se os seguintes exames bioquímicos do soro sangüíneo: determinação do proteinograma; dosagem dos teores de aspartato-aminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), determinação das bilirrubinas (HAGIWARA, 1982), albumina e colesterol (MEYER et al., 1992). Com relação à avaliação da função renal, recomendam-se as determinações séricas dos teores de uréia e creatinina (HAGIWARA, 1982).

2.4.1 Função hepática

Para a melhor compreensão dos resultados e discussão do presente estudo, descrevem-se a seguir, de forma breve os aspectos mais importantes das provas de função hepática realizadas na pesquisa, compulsados na literatura.

2.4.1.1 Aspartato-aminotransferase (AST)

A atividade primária de AST relaciona-se às células do músculo esquelético e aos hepatócitos (MEYER et al., 1992). Esta enzima encontra-se em maiores quantidades no músculo cardíaco, e em quantidades equivalentes no fígado, mucosa intestinal e músculo esquelético. Conseqüentemente, os níveis de AST podem aumentar após lesões nestes órgãos (DOXEY, 1985). Um aumento marcado de AST sugere severo insulto hepático, principalmente quando também há presença de icterícia (MEYER et al., 1992). No entanto, um aumento discreto de atividade da AST pode ser observado em doenças, como:

enfermidade hepatocelular crônica, cirrose, parasitismo hepático e neoplasia metastática primária (TENNANT, 1997). Em situação de enfermidade hepática crônica, especialmente em quadros de cirrose hepática, os níveis de AST podem apresentar-se normais ou levemente aumentados (MEYER et al., 1992).

2.4.1.2 Gama-glutamyltransferase (GGT)

A GGT é uma peptidase encontrada em grande quantidade no córtex renal, e em menores quantidades no pâncreas e epitélio biliar (DOXEY, 1985). A injúria às células tubulares renais leva ao rápido aumento de GGT na urina, porém no soro este aumento não é observado (MEYER et al., 1992). A GGT é considerada um marcador sérico para doenças relacionadas ao sistema hepatobiliar, associadas a processos de colestase, sendo também amplamente utilizada no diagnóstico de enfermidades hepáticas em animais (TENNANT, 1997). A colestase causa o aumento da atividade sérica desta enzima em todas as espécies de animais domésticos (DOXEY, 1985; MEYER et al., 1992). Situações em que ocorre lesão hepática aguda podem causar o aumento moderado de GGT em cavalos e ruminantes (MEYER et al., 1992). E também Abdelkader et al. (1991) e Kampl et al. (1995), através de estudos, determinaram que a GGT é uma enzima sensível para cavalos soroprodutores, principalmente após vários anos de imunização, servindo como indício, quando muito aumentada, de que os animais estejam desenvolvendo amiloidose.

2.4.1.3 Bilirrubina total, direta e indireta

A bilirrubina é um pigmento amarelo resultante da degradação do heme, que é um composto não protéico constituinte da hemoglobina (TENNANT, 1997). A bilirrubina indireta (BI) formada a partir da hemoglobina é transferida para o fígado combinada à albumina. Nos hepatócitos ela se conjuga ao ácido glicurônico, formando a bilirrubina direta (BD). Esta é excretada na bile e convertida em urobilinogênio pela ação das bactérias intestinais e finalmente é convertida em estercobilinogênio. A determinação da bilirrubina total (BT) ocorre através da somatória das bilirrubinas direta e indireta. O aumento da BT pode ocorrer em enfermidades que levem à grande destruição de eritrócitos, doença hepatobiliar primária ou obstrução hepática impedindo a eliminação de bile, podendo ser pré-hepática, intra-hepática ou extra-hepática (MEYER et al., 1992).

Em situações de afecções hepáticas é importante determinar as quantidades relativas de BD e BI (DOXEY, 1985). O aumento de BI ocorre em situações que levam ao aumento da produção de bilirrubina, em quadros como a anemia hemolítica e hemorragias, ou quando a conjugação de BI encontra-se diminuída. Em enfermidades hepáticas severas tanto BI como BD apresentam-se elevadas (HAGIWARA, 1982; TENNANT, 1997). Segundo Hagiwara (1982), a BD pode apresentar-se aumentada em processos hemolíticos e colestáticos.

2.4.1.4 Proteína total

Segundo Kaneko (1997), o maior sítio de formação das proteínas plasmáticas é o fígado, e em segundo lugar o sistema imune. São inúmeras as funções das proteínas no organismo, entre elas as proteínas formam a base de estrutura das células, órgãos e tecidos; mantêm a pressão coloidosmótica; são enzimas que participam de reações bioquímicas; formam os anticorpos; atuam na coagulação sanguínea, etc.

A quantidade de proteína total é a somatória entre os valores de albumina e globulina total (MEYER et al., 1992). Classicamente, situações de hiperproteinemia relativa são encontradas em quadros de desidratação, e a hipoproteinemia em situações como a ingestão excessiva de água ou infusão de soro muito rápida em soroterapia, perda de sangue de forma aguda, queimaduras extensas, diarreia, ectoparasitas e lesões exsudativas (KANEKO, 1997).

2.4.1.5 Albumina

A albumina, uma das proteínas séricas de menor peso molecular, é responsável pelo carreamento de diversos íons e ácidos graxos no plasma. (CARROL; KANEKO, 1967). Ela é essencialmente produzida no fígado (KANEKO, 1997; MEYER et al., 1992), e uma hipoalbuminemia pode significar a ocorrência de doenças crônicas como a atrofia e a cirrose hepática. Porém, a dosagem de albumina não é um teste específico para função hepática, e a sensibilidade do seu diagnóstico varia de uma espécie a outra. Uma consideração importante sobre esta proteína está relacionada à função dos rins, onde enfermidades como a glomerulonefropatia levam a hipoalbuminemia (MEYER et al., 1992; TENNANT, 1997). Outras situações que levam a hipoalbuminemia são enfermidades gastrointestinais, hemorragias e desnutrição (KANEKO, 1997) podendo estar associada à

deficiência crônica de proteína na dieta (YOUNG et al., 1990). E quadros de hiperalbuminemia relativa podem ocorrer em animais desidratados (KANEKO, 1997).

2.4.1.6 Globulina total

As globulinas são formadas pelo fígado e sistema imune (KANEKO, 1997), compreendendo os sistemas mononuclear fagocitário e linfóide (RUSSO, 2001). A globulina total é a somatória das frações α , β e γ -globulinas. Em sua maioria as α -globulinas são formadas no fígado, e as β e γ -globulinas pelo sistema imune. Dentre as frações α , β e γ existem inúmeras proteínas que apresentam várias funções e cujo aumento ou diminuição têm significados próprios, relacionando-se à faixa etária dos animais, condição de prenhez ou aleitamento, hormônios reprodutivos e influências sexuais, condição nutricional, estresse, perda de fluídos orgânicos e enfermidades.

2.4.1.7 Relação albumina/globulina

A relação albumina/globulina pode apresentar-se normal, aumentada ou diminuída e estas duas últimas são denominadas disproteinemias, relacionadas a anormalidades das frações protéicas do sangue, perceptíveis através de alterações do perfil eletroforético e da própria relação albumina/globulina. Em geral existe uma relação inversamente proporcional entre as concentrações de albumina e globulina. Do ponto de vista relativo, o aumento de uma é acompanhado pela diminuição da outra e vice-versa (KANEKO, 1997).

2.4.1.8 Colesterol

Distúrbios do metabolismo lipídico têm sido documentados ocorrendo em associação com doença hepática (MEYER et al., 1992). O principal órgão que sintetiza o colesterol é o fígado. O córtex adrenal, testículos, ovários e placenta, sintetizam pequenas quantidades de colesterol, porém a maior parte do colesterol utilizado na síntese de hormônios é obtida através do metabolismo hepático (BRUSS, 1997). Fenômenos de hipercolesterolemia podem estar associados à obstrução biliar extra hepática, síndrome nefrótica, período pós prandial, dietas ricas em gorduras e diabetes mellitus. Situações de hipocolesterolemia podem se desenvolver secundariamente a anormalidades da veia porta,

disfunção hepática, síndrome da má digestão e/ou absorção e insuficiência pancreática exócrina (MEYER et al., 1992).

2.4.1.9 Triglicérides

Os triglicérides são ácidos graxos de cadeia longa e a maioria das células do corpo é capazes de sintetizá-los; porém o fígado, o intestino delgado, o tecido adiposo e a glândula mamária são especialmente capazes deste efeito. O mecanismo de regulação em sua síntese não está claramente elucidado e difere conforme o tecido que o sintetiza. No fígado, quando a capacidade de eliminação de triglicérides sintetizado é excedida, este se acumula nas vesículas dos hepatócitos levando ao quadro de fígado gorduroso. Na glândula mamária, o substrato disponível e os hormônios que mantêm a lactação o regulam. E no intestino delgado, o substrato disponível é o fator mais importante na regulação da sua síntese (BRUSS, 1997).

O fenômeno conhecido como hiperlipidemia, ocorre quando os níveis plasmáticos de colesterol e triglicérides apresentam-se aumentados. A situação mais comum de sua ocorrência se dá após a alimentação com dietas ricas em gorduras. Para a avaliação de possíveis anormalidades no metabolismo lipídico de animais, é necessário que amostras de sangue sejam retiradas no período de jejum, para que se evite a hiperlipidemia pós-prandial. Em cavalos, situações de hiperlipidemia foram descritas quando esta espécie encontra-se em jejum prolongado (BRUSS, 1997). Este fenômeno também pode ser observado em éguas prenhes, lactentes, em cavalos obesos e situações de estresse (BRUSS, 1997; STOCKHAM, 1995).

2.4.2 Função renal

Para a melhor compreensão dos resultados e discussão do presente estudo, descrevem-se a seguir, de forma breve os aspectos mais importantes das provas de função renal realizadas na pesquisa, compulsados na literatura.

2.4.2.1 Uréia e creatinina

A determinação dos níveis de uréia e creatinina plasmáticas tem sido, recomendada e indicada para a avaliação da função renal dos animais domésticos, auxiliando no diagnóstico

de inúmeras nefropatias (COLES, 1986). A maior porção da uréia é sintetizada no fígado, a partir da amônia proveniente do catabolismo protéico e da absorção intestinal (COLES, 1986; DUNKAN; PRASSE, 1977; MEYER et al., 1992) e uma menor fração originária da alimentação (DUNKAN; PRASSE, 1977). A creatinina é o produto da degradação da creatina muscular e, como a uréia as suas concentrações dependem da sua síntese e excreção. Em geral, as suas concentrações apresentam-se constantes, exceto quando ocorre rabdomiólise ou esforço muscular em exagero (STOCKHAM, 1995).

A uréia e a creatinina são eliminadas do organismo através da função renal, sendo os rins responsáveis pela depuração das duas referidas substâncias nitrogenadas não protéicas, podendo então, servir ao objetivo de avaliação da função renal dos animais (DOXEY, 1985). Como a uréia é sintetizada pelo fígado, pode apresentar-se diminuída em processos de disfunção hepática (MEYER et al., 1992; STOCKHAM, 1995).

As maiores causas do aumento de uréia no plasma podem ser decorrentes de uma dieta com proteínas de baixa qualidade, ingestão de proteínas acima do requerimento orgânico, ingestão de uréia (FONNESBECK; SYMONS, 1969) e falência renal (FONNESBECK; SYMONS, 1969; MEYER et al., 1992). Segundo Finco (1997), em algumas espécies, a uréia aumenta consideravelmente em resposta a uma dieta rica em proteína, podendo funcionar como um marcador da quantidade de proteína ingerida.

Situações em que tanto uréia como creatinina encontram-se aumentadas são: desidratação, enfermidade cardiovascular, choque séptico, obstrução do trato urinário, ruptura de bexiga e diminuição da taxa de filtração glomerular. E a síntese de creatinina pode apresentar-se diminuída em quadros de atrofia muscular (MEYER et al., 1992).

2.4.3 Ferro e transferrina

O ferro em mamíferos, encontra-se depositado no interior da hemoglobina, mioglobina, enzimas e hemossiderina (CHEVILLE, 2004; SMITH, 1997;). A deficiência de ferro em animais domésticos é pouco freqüente, mas quando ocorre, pode comprometer a saúde e performance destes animais. Existem três categorias de deficiência de ferro em animais adultos: deficiência por ingestão inadequada, determinadas categorias de anemias e hemorragias (SMITH, 1997). Em doenças infecciosas e processos inflamatórios, ocorre a diminuição da disponibilidade de ferro pela ação de macrófagos para impedir o acesso de microorganismos ao ferro e desviar o ferro lábil para a síntese de ferritina, proteína de fase aguda que aumenta em processos inflamatórios graves (CHEVILLE, 2004; SMITH, 1997).

Já o aumento do ferro sérico pode ocorrer devido a fatores genéticos, iatrogênicos, em anemias hemolíticas, enfermidade hepática, modificações na dieta e indução experimental (SMITH, 1997).

A transferrina é uma proteína que faz parte do grupo das β -globulinas, que têm a função de transportar o ferro. Os níveis de transferrina podem se encontrar aumentados em situações como anemias, deficiência de ferro, gestação, enfermidade hepática aguda e síndrome nefrótica. E contrariamente, podem encontrar-se diminuídos em enfermidade hepática crônica e em processos inflamatórios agudos (KANEKO, 1997).

2.4.4 Avaliações bioquímicas: em equínos alimentados com diferentes teores de proteína bruta e em cavalos soroprodutores

Diversos autores têm estudado a relação entre teores protéicos na dieta de equínos (praticando, ou não, atividades esportivas), com as concentrações séricas de proteína total, albumina, uréia, creatinina e a relação albumina/globulina.

Nelson e Tyznik (1971), avaliaram pôneis alimentados com três concentrados compostos de diferentes teores de proteína bruta: 12,2%, 14,7% e 17,4%. O concentrado com 12,2% de PB continha uréia como principal fonte de nitrogênio, no concentrado com 14,7% de PB, a principal fonte de nitrogênio foi caseína e no concentrado com 17,4% de PB, a principal fonte de nitrogênio foi farinha de glúten de milho. Foram determinados os teores de uréia no plasma destes animais e, ao final do experimento, os autores concluíram que as maiores concentrações de uréia pertenciam ao grupo alimentado com o concentrado com 12,2% de PB, seguido pelo grupo alimentado com 17,4% de PB e as menores concentrações de uréia no plasma pertenciam ao grupo alimentado com o concentrado com 14,7% de PB.

Patterson et al. (1985), analisaram as concentrações séricas de uréia, creatinina, proteína total, albumina, globulina total e a relação albumina/globulina em equínos alimentados com concentrados contendo três teores diferentes de proteína bruta: 5,5%, 7,0% e 8,5% submetidos a exercícios intensos, moderados e em manutenção durante dois meses. Ao final da pesquisa, eles concluíram que os diferentes teores de proteína bruta não influenciaram as concentrações de proteína total, albumina, globulina, creatinina e a relação albumina/globulina. Porém, observaram que o teor protéico influenciou as concentrações de uréia que foram maiores nos grupos alimentados com os concentrados contendo 7,0% e 8,5% de PB quando comparadas ao grupo alimentado com o concentrado com 5,5% de PB.

Miller e Lawrence (1988), determinaram as concentrações de uréia no plasma de cavalos Quarto de Milha praticando atividades esportivas. Estes animais foram divididos em dois grupos: um alimentado com concentrado com teor de 12,9% de PB e o outro alimentado com concentrado com teor de 18,5% de PB. Ao final do estudo, os autores concluíram que as concentrações de uréia apresentaram-se aumentadas no grupo alimentado com 18,5% de PB quando comparada ao grupo alimentado com 12,9% de PB.

Graham-Thiers et al. (2000) avaliaram durante nove semanas as concentrações de albumina, proteína total, uréia e creatinina no plasma de cavalos Árabes submetidos a exercícios físicos. Os animais foram distribuídos em dois grupos: um foi alimentado com concentrado com 7,5% de PB acrescida de 0,5% de lisina e 0,3% de treonina e o outro grupo alimentado com concentrado com 14,5% de PB. Ao final do estudo, os pesquisadores concluíram que as concentrações plasmáticas de albumina, proteína total e creatinina não sofreram influência dos concentrados. Porém, os teores de uréia foram maiores no grupo alimentado com concentrado com 14,5% de PB quando comparados aos teores do grupo alimentado com concentrado com 7,5% de PB acrescida dos aminoácidos essenciais.

Em 2003, Graham-Thiers et al. realizaram durante nove semanas, outro estudo com cavalos Árabes praticando atividades esportivas. Foram dosadas as concentrações séricas dos mesmos parâmetros do experimento anterior. Porém, nesta pesquisa um dos grupos recebeu dieta com 7,5% de PB sem acréscimo de aminoácidos e o outro a ração com 14,5% de PB. Os pesquisadores concluíram que apenas as concentrações séricas de uréia se alteraram, aumentando no grupo alimentado com a dieta com 14,5% de PB, quando comparadas ao grupo alimentado com a dieta com 7,5% de PB.

Olsman et al. (2003), avaliaram pôneis alimentados com concentrados com diferentes teores de PB para determinar o requerimento protéico para estes animais. Os pôneis foram divididos em dois grupos: um alimentado com concentrado com 4,9% de PB e o outro alimentado com concentrado com 11,3% de PB durante 15 dias. Neste período avaliaram-se os teores plasmáticos de proteína total, albumina, uréia e creatinina. Estes pesquisadores concluíram que os valores de PT, albumina e creatinina não sofreram influência dos teores protéicos na comparação entre os grupos. Porém, os teores de uréia foram significativamente maiores no grupo alimentado com 11,3% de PB quando comparado ao grupo alimentado com 4,9% de PB.

Parra (2005), realizou um estudo com os cavalos soroprodutores da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan, imunizados com veneno de cobra cascavel (crotálico) alimentados com ração com teor de 22% de PB durante dois ciclos de imunização. Em sua

pesquisa, dentre os vários parâmetros avaliados, a autora determinou as concentrações de bilirrubina: total, direta e indireta, ferro e transferrina; analisando estas variáveis nos períodos de inoculação de antígeno, sangrias de produção e descanso dos animais. Parra concluiu que apenas as concentrações de ferro e transferrina foram significativas em decorrência da anemia ferropriva desenvolvida durante o processo de produção de plasma-hiperimune.

Abdelkader et al. (1991), pesquisaram cavalos soroprodutores imunizados com culturas de *E. coli* ou *P. multocida*. Os animais foram imunizados uma a duas vezes por semana nos meses de setembro e outubro, e nos meses de novembro a maio imunizados a cada duas semanas. O período de descanso das imunizações ocorreu nos meses de junho a agosto. Este procedimento teve duração de dez anos, e amostras de sangue foram retiradas em 26 ocasiões para avaliação da atividade de AST, GGT e as concentrações de bilirrubina total. Ao final do estudo, os pesquisadores concluíram que as imunizações não influenciaram a atividade de AST, nem as concentrações de bilirrubina total. Porém a atividade de GGT aumentou no transcorrer do experimento, apresentando valores médios duas vezes maiores que os limites de referência entre o oitavo e décimo ano da pesquisa.

Kampl et al. (1995), avaliaram eqüinos soroprodutores imunizados com toxina de *Clostridium tetani* determinando a atividade de GGT nestes animais, e concluíram que esta enzima apresentou aumento gradual durante a pesquisa. O ciclo de imunização destes animais consistiu de 5 injeções de toxina tetânica (as três primeiras injeções eram subcutâneas e as outras duas intramuscular (IM), com intervalos de 3 dias e descanso de 12 dias, assim sucessivamente durante 10 meses. Os autores determinaram os maiores picos de GGT no sexto e nono mês da pesquisa.

Sahal et al. (2004), avaliaram cavalos soroprodutores inoculados com toxóide tetânico IM uma vez por semana durante quatro semanas. Foram determinadas as concentrações plasmáticas de AST, colesterol e uréia antes e depois das imunizações. Os pesquisadores concluíram que as concentrações médias de uréia e AST diminuíram, e os valores médios de colesterol aumentaram.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para a melhor compreensão dos métodos empregados no estudo, os itens a seguir descrevem os manejos nutricional e sanitário dos animais, como realizou-se a sua seleção, a determinação dos grupos experimentais, o protocolo de produção de plasma-hiperimune, a colheita das amostras de sangue e como procedeu-se a análise sérica destas amostras.

3.1 MANEJO NUTRICIONAL DOS ANIMAIS

Aos eqüinos da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan é fornecido nos meses de novembro a junho o capim coast cross *ad libitum* uma vez ao dia, e 5 Kg de concentrado peletizado granulado (com teor de 22% de PB) por animal, fracionado duas vezes ao dia, pela manhã e à tarde, em sistema de arraçoamento coletivo. Nos meses de julho a outubro o fornecimento de concentrado é o mesmo, porém é fornecido como volumoso o feno de coast cross, na quantidade de 6 Kg por animal ao dia.

3.2 MANEJO SANITÁRIO

Os eqüinos da Fazenda São Joaquim possuem numeração própria realizada com nitrogênio líquido para sua identificação, e cada animal possui ficha individual com histórico de procedência, idade, tipo e manejo sanitário.

A tropa é vacinada uma vez ao ano contra encefalomielite eqüina, influenza, tétano e raiva; vermifugada quatro vezes ao ano (a cada 3 meses); e passa por combate estratégico contra ectoparasitas nos meses de maio e setembro. Os animais que estão em produção são pesados semanalmente e após o término do serviço de produção são pesados a cada 15 dias.

A Fazenda São Joaquim é uma entidade controlada pelo Ministério da Agricultura e como tal, seus eqüinos são testados por laboratórios credenciados pelo Ministério a cada 6 meses para anemia infecciosa eqüina.

Existe grande preocupação por parte do Instituto Butantan com ralação ao bem estar destes animais. Eles são criados em manejo semi-extensivo, com muita vegetação e água de boa qualidade *ad libitum*. Além de serem submetidos a um período mínimo de 45 dias de descanso entre os ciclos de imunização para o seu completo restabelecimento orgânico.

3.3 SELEÇÃO DOS ANIMAIS

O grupo escolhido aleatoriamente para esta pesquisa, foi o dos eqüídeos produtores de soro antidiftérico da Fazenda São Joaquim do Instituto Butantan, com idade entre 6 a 12 anos, machos, castrados, sem raça definida. Os animais sofreram avaliação clínica para confirmação da higidez. Para tanto, foram aferidas as funções vitais (frequências respiratórias e cardíacas, e temperatura interna) além do exame de mucosas aparentes.

3.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Após a constatação da sanidade dos eqüídeos do grupo diftérico, selecionou-se 32 destes animais. Eles foram divididos em 2 grupos ao acaso, cada grupo contendo 16 cavalos. Um grupo foi alimentado com concentrado (comercial, anexo A) com 15% de proteína bruta (Grupo A), e o outro com concentrado (hiperprotéico, anexo B) com teor de 22% de proteína bruta (Grupo B). O fornecimento de água e volumoso foi o mesmo para ambos os grupos experimentais. O único fator diferencial entre os grupos submetidos à imunização com o antígeno diftérico foi o teor protéico dos concentrados.

Antes do início da pesquisa, os animais do grupo A sofreram um período de adaptação de um mês com a ração com teor de 15% de PB.

3.5 PROTOCOLO DE PRODUÇÃO DE PLASMA-HIPERIMUNE

Para a produção de soro anti-diftérico utilizou-se o processo tradicional e rotineiro da seção de obtenção de plasma-hiperimune do Instituto Butantan, que compreende as inoculações (subcutâneas) de antígeno diftérico, sangrias de produção e plasmafereses. Os intervalos de tempo, foram descritos no quadro 1.

Dia	Procedimento
1	Inoculação
9	Inoculação
15	Inoculação
23	1 ^a Sangria de Produção
25	2 ^a Sangria de Produção e Plasmaferese
28	3 ^a Sangria de Produção e Plasmaferese

Quadro 1- Representação dos intervalos de tempo relacionados ao processo de produção de plasma-hiperimune dos cavalos soroprodutores dos grupos A e B

3.6 COLHEITA DAS AMOSTRAS DE SANGUE PARA AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

O presente estudo foi dividido em duas fases que corresponderam a dois ciclos de imunização. As colheitas de sangue dos animais para avaliação bioquímica foram denominadas momentos de 1 a 9 (sendo o momento 1 o momento zero da pesquisa). A primeira fase correspondeu ao primeiro ciclo de imunização que compreendeu os períodos de imunização, as sangrias de produção e o período de recuperação dos animais (período de descanso). A segunda fase correspondeu ao segundo ciclo de imunização que repete as etapas da primeira fase e iniciou-se 67 dias após a última sangria de produção. As amostras de sangue para os exames bioquímicos foram colhidas nos seguintes momentos: antes das inoculações; antes das sangrias de produção; e 15, 30 e 45 dias do período de descanso dos animais (que iniciou-se após a última sangria de produção) representados no quadro 2.

As colheitas de amostras de sangue foram feitas em frasco estéril sem anticoagulante, para obtenção do soro. As amostras de sangue dos equinos, utilizadas para obtenção de soro para a realização dos testes, foram colhidas por venopunção jugular com agulhas descartáveis (25mm x 0,8mm), utilizando-se tubos de vidro transparente, especiais para colheita de sangue com aspiração à vácuo (vacutainer), esterilizados, siliconizados, sem anticoagulante, com tampa de borracha. Após a coagulação do sangue e sinérese do coágulo, as amostras foram

submetidas à centrifugação de 1400 G, por 10 minutos para obtenção do soro. Cada amostra de soro foi fracionada em duas alíquotas (1,5 ml), estocadas em tubos de plástico tipo Eppendorf® e conservadas em congelador, a temperatura de -20°C, para posteriores procedimentos laboratoriais (BIRGEL, 1982).

Momentos	Fases do experimento	Grupo A	Grupo B
1	Antes da inoculação	Colheita de amostra	Colheita de amostra
2	Antes da inoculação	Colheita de amostra	Colheita de amostra
3	Antes da inoculação	Colheita de amostra	Colheita de amostra
4	Antes da primeira sangria de produção	Colheita de amostra	Colheita de amostra
5	Antes da segunda sangria de produção e plasmaferese	Colheita de amostra	Colheita de amostra
6	Antes da terceira sangria de produção e plasmaferese	Colheita de amostra	Colheita de amostra
7	15 dias de descanso	Colheita de amostra	Colheita de amostra
8	30 dias de descanso	Colheita de amostra	Colheita de amostra
9	45 dias de descanso	Colheita de amostra	Colheita de amostra
Número de animais	—	16	16

Quadro 2 - Representação dos momentos referentes à inoculação de antígeno, sangria de produção, descanso e colheita das amostras de sangue dos equinos soroprodutores dos grupos A e B, durante a primeira e segunda fase da pesquisa

3.7 ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE SORO

As amostras foram processadas nos laboratórios de Pesquisa do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo.

3.7.1 Função hepática

Os próximos itens descrevem as provas de função hepática realizadas na pesquisa, baseando-se no método empregado e kit comercial utilizado.

3.7.1.1 Determinação da atividade sérica da aspartato-aminotransferase

A atividade enzimática da AST sérica foi determinada de acordo com a metodologia cinética otimizada preconizada pela International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), utilizando-se o analisador bioquímico automático LIASYS®² kit comercial.³

O método baseia-se na ação catalítica da AST sobre alfa-cetoglutarato e o L-aspartato, originando o L-glutamato e oxalacetato; esta última substância é convertida a L-malato pela ação da malato desidrogenase, e nessa etapa da reação, ocorre simultaneamente a oxidação de NADH a NAD⁺ ocasionando uma diminuição na absorção de luz em comprimento de onda de 340 nm (BERGMEYER, 1974).

3.7.1.2 Determinação da atividade sérica da gama-glutamiltransferase

A atividade enzimática da GGT foi determinada segundo método cinético otimizado recomendado pela IFCC, no analisador bioquímico automático LIASYS® e kit comercial.⁴

O método é baseado na ação catalítica da GGT sobre a L-gama-glutamil-3-carboxi-4-nitranilida e glicina dando origem a L-gama-glutamilglicina e 5-amino-2nitrobenzoato, sendo este último um composto colorido, cuja intensidade de cor é proporcional à atividade enzimática da GGT, e mensurada em comprimento de onda de 405 nm (SZASZ, 1969).

² Liasys-MAS-Analysador Medical Sistem.

³ Boehringer Mannheim-kit monotest n° 736 791.

⁴ Boehringer Mannheim-kit monotest n° 750 832.

3.7.1.3 Dosagem de bilirrubinas

A dosagem das bilirrubinas foi feita com o uso de reativos específicos para dosagem de Bilirrubina®⁵

A análise baseou-se no método colorimétrico direto segundo método de Jendrassik e Grof (1938) para a determinação das bilirrubinas direta e total, em sangue e outros líquidos biológicos. Na fundamentação desta técnica, a bilirrubina reage especificamente com o ácido sulfanílico diazotado, produzindo um pigmento vermelho (azobilirrubina) cuja intensidade de cor é determinada em espectrofotometria com 530 nm de comprimento de onda. A bilirrubina conjugada (direta) reage diretamente com o diazoreativo. Para se obter a reação de toda a bilirrubina presente (total) emprega-se um revelador aquoso de benzoato de cafeína e a leitura ocorreu no analisador bioquímico automático LIASYS®.

Determinou-se as concentrações de bilirrubina indireta (livre) através da diferença entre as bilirrubinas total e direta.

3.7.1.4 Determinação dos teores séricos de proteína total

Para determinação do teor total de proteínas séricas, foi utilizado o método do biureto recomendado por Gornall et al. (1949), modificado por Strufaldi (1987). O princípio do método baseia-se na reação dos tripeptídios, polipeptídios e das proteínas existentes no soro sanguíneo com íons de cobre, presentes no reativo do biureto, em meio alcalino, formando-se um complexo de coloração violeta. Para leitura foi utilizado o analisador bioquímico automático LIASYS® em comprimento de onda de 555nm.

3.7.1.5 Determinação dos teores séricos de albumina

A determinação dos teores séricos de albumina foi realizada com uso do método do verde de bromocresol, de acordo com a técnica preconizada por Doumas e Biggs (1972), modificado com leitura da coloração da reação obtida em espectrofotômetro, utilizando-se comprimento de onda de 628 nm. O princípio desta técnica baseia-se na reação entre a albumina e a solução de verde de bromocresol em pH 4,0, sendo a intensidade da reação

⁵ Reativo para dosagem de bilirrubina- CELM- n° 1721.

diretamente proporcional à concentração de albumina presente na amostra, com leitura da reação no analisador bioquímico automático LIASYS®.

3.7.1.6 Determinação dos teores séricos de globulina total

Os teores séricos de globulina total foram determinados através da subtração dos teores séricos de proteína total e albumina (KANEKO, 1997).

3.7.1.7 Determinação da relação albumina/globulina

A relação albumina/globulina foi determinada através do cálculo de divisão, onde o dividendo foi composto pela concentração sérica de globulinas e o divisor pela concentração sérica de albumina (KANEKO, 1997).

3.7.1.8 Determinação dos teores séricos de colesterol

A determinação dos teores séricos de colesterol baseou-se no método descrito por Allain et al. (1974). O método foi empregado com reativos específicos para a dosagem de colesterol⁶ com leitura por metodologia enzimática colorimétrica no analisador bioquímico automático LIASYS®.

O método está baseado na ação das enzimas colesterol-esterase e colesterol-oxidase sobre o colesterol, originando um composto intermediário e água oxigenada. Na presença de peroxidase, a água oxigenada formada na reação anterior, reage com 4-arnino-antipirina e fenol dando origem a um complexo que desenvolve coloração, cuja intensidade medida em comprimento de onda igual a 500 nm mantém relação direta com a quantidade de colesterol presente na amostra.

3.7.1.9 Determinação dos teores séricos de triglicérides

Os teores séricos de triglicérides foram quantificados conforme técnica descrita por Fossati e Prencipe (1982), através de reativos específicos⁷ no analisador bioquímico LIASYS®.

⁶ Reagente da Bio Systems M 11505c-0013.

⁷ Reativo da Bio Systems M 11528c-0010.

O método baseia-se na hidrólise dos triglicérides pela ação da enzima lipase liberando glicerol, que sob ação das enzimas glicerol-quinase e glicerol-fosfato-oxidase forma peróxido de hidrogênio. Este sofre a ação da enzima peroxidase, produzindo quinolaimina originando um complexo colorido que se quantifica por espectrofotometria.

3.7.2 Função renal

Os próximos itens descrevem as provas de função renal realizadas na pesquisa, baseando-se no método empregado e kit comercial utilizado.

3.7.2.1 Determinação dos teores séricos de uréia

A uréia sérica foi determinada pelo método da urease descrito por Talke e Schubert (1965), usando-se kit comercial⁸. O método fundamenta-se na ação da urease sobre a uréia em meio aquoso originando amônia e liberando CO₂. A seguir, a amônia e o 2-oxiglutarato convertem-se em L-glutamato pela ação da glutamato desidrogenase, havendo nesta reação oxidação simultânea do NADH₂ a NADH, demonstrada pela diminuição da absorbância da luz monocromática em comprimento de onda de 340 nm. As determinações nessa pesquisa foram feitas utilizando-se o analisador bioquímico automático LIASYS®.

3.7.2.2 Determinação dos teores séricos de creatinina

Nas determinações da creatinina sérica foi utilizado o método cinético descrito por Lutsgarten e Wenk (1972), cuja metodologia baseia-se na reação da creatinina com o ácido pícrico em meio alcalino, produzindo picrato de creatinina, tautômero de coloração avermelhada, que pode ser avaliado em comprimento de onda de 515 nm. A determinação foi feita através do analisador bioquímico automático LIASYS®.

3.7.3 Determinação dos teores séricos de ferro e transferrina

O ferro foi analisado por método colorimétrico utilizando analisador bioquímico automático LIASYS e reativos específicos para dosagem de ferro⁹.

⁸ Kit Bayer nº t-01-1581-56.

⁹ Reativo para dosagem de ferro – Raichem – Division of Hemagen Diagnostics nº 85163

Esse método colorimétrico utilizado promove uma reação onde Fe^{+++} (forma férrica) é reduzida a Fe^{++} (forma ferrosa) pela ação de agente redutor (hidroxilamina). Após a completa redução, ocorre uma reação do íon ferroso com um agente complexante (ferene), sendo a intensidade da coloração desenvolvida proporcional à concentração de ferro existente na amostra. No processo se quantifica também a capacidade total de ligação do ferro com a transferrina.

3.7.4 Determinação do peso

Os animais foram pesados nos mesmos momentos em que foram retiradas as amostras de sangue para as análises bioquímicas. Utilizou-se a balança eletrônica Coimma Ruddweigh® modelo 1200.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para calcular os valores da média aritmética, mediana, desvio-padrão e a variação dos resultados obtidos para os parâmetros bioquímicos avaliados nesta pesquisa, bem como para realizar os testes estatísticos, comparando as médias ou medianas obtidas nos grupos experimentais, utilizou-se o programa de computador Minitab® Release 14.1 (MINITAB, 2003).

Os testes estatísticos foram realizados para determinação do nível de significância de duas formas: confrontando os resultados bioquímicos dos cavalos do grupo A, frente aos resultados dos cavalos do grupo B baseando-se nas diferentes fases de produção a que estes animais foram submetidos, previamente denominadas de momentos. E comparando os resultados bioquímicos dos cavalos intra-grupos, ou seja, entre o momento 1 da primeira fase de cada variável do estudo com os demais momentos no mesmo grupo; confrontando os valores bioquímicos do início do experimento (antes da primeira imunização do primeiro ciclo de produção) com os demais valores dos outros momentos, tornando-se este momento o valor de referência para estas comparações. Na primeira fase ele é denominado momento 1 e na segunda fase momento 0.

Na análise entre os grupos, os resultados que apresentaram distribuição normal foram avaliados através do teste T para duas amostras (teste paramétrico), e os resultados que não apresentaram distribuição normal foram avaliados através do Mann-Whitney (teste não

paramétrico), ambos os testes com nível de significância $p < 0,05$. Com relação à análise intra-grupos utilizou-se o teste T pareado para amostras com distribuição normal (teste paramétrico) e o teste de Wilcoxon (teste não paramétrico) para amostras que não apresentaram distribuição normal, ambos com nível de significância $p < 0,05$, segundo Petrie e Watson, (1999) e Rey, (2003). Para determinar a média, mediana e desvio padrão dos resultados procedeu-se a estatística descritiva dos mesmos.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos de 596 amostras de soro, colhidas de 32 eqüinos, sem raça definida, criados na Fazenda São Joaquim, situada na região de São Roque - SP, pertencentes ao Instituto Butantan, para avaliação bioquímica dos seguintes parâmetros: AST, GGT, bilirrubinas: total, direta e indireta, proteína total, albumina, globulina total, relação albumina/globulina, uréia, creatinina, colesterol, triglicérides, ferro, transferrina e peso dos animais durante o processo de hiperimunização com a toxina diftérica, sangrias de produção e descanso dos animais, estão apresentados em 16 tabelas. As tabelas de número 2, 4, 6, 7, 10, 12, 14 e 16 referem-se à primeira fase da pesquisa, e as tabelas de número 3, 5, 8, 9, 11, 13, 15 e 17 referem-se à segunda fase. Elas apresentam os valores de média, mediana, desvio padrão e nível de significância dos parâmetros anteriormente citados avaliados durante a pesquisa. Relembrando que o valor de referência da pesquisa baseou-se no momento 1 da primeira fase. Na segunda fase o momento 1 é denominado momento 0, para facilitar a comparação na avaliação dos resultados intra-grupos.

Além das tabelas, os valores das variáveis avaliadas no transcurso do experimento foram distribuídos em gráficos, facilitando a visualização das mesmas, Escolhendo-se o gráfico de linhas para a representação dos resultados.

4.1 FUNÇÃO HEPÁTICA

Os tópicos a seguir descrevem os resultados de AST, GGT, bilirrubinas: total, direta e indireta, proteína total, albumina, globulina total, relação albumina/globulina, colesterol e triglicérides.

4.1.1 Aspartato-aminotransferase e gama-glutamilttransferase

Após o início das imunizações da primeira fase, as médias de AST tenderam a diminuir para ambos os grupos experimentais, atingindo os valores mínimos para o grupo A no momento 5 ($194,9 \pm 75,4$ U/L) e para o grupo B no momento 4 ($181,1 \pm 73,5$ U/L), aumentando no período de descanso dos animais, atingindo os valores máximos no momento 8 tanto para o grupo A como para o grupo B (respectivamente $377,0 \pm 116,0$ U/L e $363,0 \pm 119,0$ U/L). A análise das concentrações de AST intra-grupos (comparação do

momento 1 com os demais momentos no próprio grupo) indicou a diminuição das concentrações de AST para o grupo A nos momentos 4 e 5 ($p<0,039$) e para o grupo B nos momentos 2, 4, 5 e 6 ($p<0,009$), aumento para ambos os grupos A e B nos momentos 8 e 9 (respectivamente $p<0,002$ e $p<0,000$). Não houve significância das concentrações de AST entre os grupos A e B, apresentada na tabela 2 e gráfico 1.

Gráfico 1- Variação das médias das concentrações de AST dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Na primeira fase os valores médios de GGT apresentaram variações de grande amplitude para ambos os grupos A e B, aumentando após o momento 1 (respectivamente $9,22 \pm 5,40$ U/L e $9,58 \pm 9,64$ U/L), chegando praticamente a dobrar de valor no momento 8 (respectivamente $18,65 \pm 14,48$ U/L e $18,19 \pm 8,26$ U/L). A avaliação das concentrações de GGT intra-grupos indicou o seu aumento tanto para o grupo A como para o grupo B nos momentos 5, 6, 7, 8 e 9 (respectivamente $p < 0,000$; $p < 0,0006$). A análise entre os grupos indicou aumento das concentrações de GGT do grupo A em relação ao grupo B no momento 2 ($p < 0,007$), apresentado na tabela 2 e gráfico 2.

Gráfico 2- Variação das médias das concentrações de GGT dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 2 – Valores médios, desvio padrão, e mediana de aspartato-aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo - 2006

Momentos	AST (U/L)		GGT (U/L)	
	A	B	A	B
1	260,7 ± 61,0 ^{A a} 258,1	284,7 ± 82,8 ^{A a} 278,7	9,22 ± 5,40 ^{A a} 7,18	9,58 ± 9,64 ^{A a} 6,89
2	238,2 ± 68,2 ^{A a} 222,3	241,2 ± 62,9 ^{B a} 237,3	10,77 ± 4,47 ^{A a} 10,14	7,11 ± 7,75 ^{A b} 4,83
3	264,4 ± 92,2 ^{A a} 246,9	259,7 ± 63,2 ^{A a} 268,8	12,95 ± 8,89 ^{A a} 10,98	12,72 ± 10,36 ^{A a} 8,44
4	208,7 ± 72,8 ^{B a} 202,0	181,1 ± 73,5 ^{B a} 149,6	12,77 ± 7,05 ^{A a} 10,58	12,58 ± 9,07 ^{A a} 11,61
5	194,9 ± 75,4 ^{B a} 194,3	189,5 ± 87,3 ^{B a} 167,4	16,47 ± 10,68 ^{B a} 12,76	15,99 ± 11,82 ^{B a} 12,85
6	233,0 ± 65,0 ^{A a} 222,3	217,9 ± 59,6 ^{B a} 215,7	14,62 ± 9,79 ^{B a} 10,71	14,46 ± 7,89 ^{B a} 12,15
7	264,3 ± 60,0 ^{A a} 259,3	275,6 ± 80,8 ^{A a} 247,0	14,14 ± 9,54 ^{B a} 11,70	17,00 ± 9,48 ^{B a} 14,27
8	377,0 ± 116,0 ^{B a} 318,3	363,0 ± 119,0 ^{B a} 336,3	18,65 ± 14,48 ^{B a} 13,14	18,19 ± 8,26 ^{B a} 17,56
9	319,6 ± 72,8 ^{B a} 316,7	320,8 ± 104,1 ^{B a} 295,7	17,90 ± 12,65 ^{B a} 11,98	17,39 ± 8,67 ^{B a} 16,06

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

Na segunda fase após o início das imunizações, as médias de AST tenderam a diminuir tanto para o grupo A como para o B, atingindo os valores mínimos para ambos os grupos no momento 5 (respectivamente $205,4 \pm 41,4$ U/L e $211,3 \pm 55,8$ U/L), os valores máximos para o grupo A no momento 1 ($340,7 \pm 86,3$) e para o grupo B no momento 8 ($347,6 \pm 52,6$). Os resultados avaliados intra-grupos (entre o momento 1 da primeira fase, denominado na segunda fase momento 0, e os demais momentos no próprio grupo) indicaram para o grupo A diminuição das concentrações de AST nos momentos 4 e 5 ($p < 0,002$) e aumento nos momentos 1, 8 e 9 ($p < 0,011$), para o grupo B diminuição nos momentos 3, 4 e 5 ($p < 0,023$) e aumento no momento 8 ($p < 0,007$). Não houve significância de AST entre os grupos A e B, apresentada na tabela 3 e gráfico 3.

Gráfico 3 - Variação das médias das concentrações de AST dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

As médias de GGT apresentaram grande amplitude de variação na segunda fase, partindo do momento 1 com os valores altos, atingindo as concentrações máximas tanto para o grupo A como para o B no momento 4 (respectivamente $19,29 \pm 11,64$ U/L e $23,00 \pm 19,77$ U/L). A análise dos resultados intra-grupos indicou o aumento de GGT para o grupo A nos momentos 1, 2, 3 e 4 ($p < 0,0037$) e para o grupo B nos momentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 ($p < 0,0021$). Não houve significância entre os grupos A e B, demonstrada na tabela 3 e gráfico 4.

Gráfico 4 - Variação das médias das concentrações de GGT dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 3 – Valores médios, desvio padrão, e mediana de aspartato-aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT) dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	AST (U/L)		GGT (U/L)	
	A	B	A	B
0	260,7 ± 61,0 ^{A a} 258,1	284,7 ± 82,8 ^{A a} 287,7	9,22 ± 5,40 ^{A a} 7,18	9,58 ± 9,64 ^{A a} 6,89
1	340,7 ± 86,3 ^{B a} 313,0	331,3 ± 78,8 ^{A a} 301,8	18,23 ± 13,32 ^{B a} 13,50	17,20 ± 11,21 ^{B a} 14,03
2	278,0 ± 76,5 ^{A a} 267,0	269,7 ± 47,6 ^{A a} 274,7	16,64 ± 10,39 ^{B a} 11,92	18,90 ± 13,70 ^{B a} 13,98
3	249,9 ± 61,1 ^{A a} 232,7	233,1 ± 45,2 ^{B a} 225,6	18,71 ± 13,45 ^{B a} 15,35	19,64 ± 15,60 ^{B a} 12,29
4	207,7 ± 43,6 ^{B a} 209,1	220,2 ± 51,4 ^{B a} 214,2	19,29 ± 11,64 ^{B a} 13,24	23,00 ± 19,77 ^{B a} 14,55
5	205,4 ± 41,4 ^{B a} 201,6	211,3 ± 55,8 ^{B a} 212,1	14,86 ± 9,59 ^{A a} 12,12	22,54 ± 21,44 ^{B a} 13,92
6	233,4 ± 63,6 ^{A a} 213,6	248,1 ± 72,2 ^{A a} 233,9	12,31 ± 6,60 ^{A a} 10,09	18,90 ± 18,11 ^{B a} 10,70
7	245,7 ± 53,8 ^{A a} 225,1	265,8 ± 51,0 ^{A a} 274,4	11,07 ± 5,16 ^{A a} 9,48	15,36 ± 12,31 ^{A a} 10,54
8	327,7 ± 89,3 ^{B a} 311,2	347,6 ± 52,6 ^{B a} 354,1	11,53 ± 8,82 ^{A a} 9,38	11,96 ± 7,44 ^{A a} 9,48
9	324,9 ± 64,8 ^{B a} 307,2	300,3 ± 112,0 ^{A a} 286,9	11,67 ± 6,59 ^{A a} 11,65	13,85 ± 6,76 ^{A a} 11,70

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

4.1.2 Bilirrubina total, direta e indireta

Na primeira fase as médias das concentrações de BT tenderam a diminuir, ocorrendo os valores mínimos para o grupo A no momento 5 ($10,2 \pm 4,8 \mu\text{mol/L}$) e para o grupo B no momento 6 ($10,9 \pm 4,5 \mu\text{mol/L}$). A avaliação intra-grupos indicou para o grupo A diminuição das concentrações de BT nos momentos 4, 5 e 6 ($p < 0,0255$), aumento no momento 8 ($p < 0,007$) e para o grupo B diminuição das concentrações nos momentos 2, 4, 5, 6 e 7 ($p < 0,036$). Não houve significância dos valores de BT entre os grupos A e B, apresentados na tabela 4 e gráfico 5.

Gráfico 5 - Variação das médias das concentrações de bilirrubina total dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase. Segundo momentos definidos no quadro 2

As médias de BD oscilaram durante toda a primeira fase. A avaliação dos resultados intra-grupos indicou para o grupo A diminuição das concentrações de BD nos momentos 4, 5 e 6 ($p<0,003$), aumento no momento 2 ($p<0,001$) e para o grupo B diminuição nos momentos 4, 5, 6 e 7 ($p<0,010$). Os resultados avaliados entre os grupos indicaram o aumento das concentrações de BD do grupo B em relação ao A nos momentos 1 e 6 ($p<0,034$), demonstrado na tabela 4 e gráfico 6.

Gráfico 6 - Variação das médias das concentrações de bilirrubina direta dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Na primeira fase após a primeira imunização, as médias das concentrações de BI tenderam a diminuir, ocorrendo os valores médios mínimos para o grupo A no momento 5 ($6,8 \pm 4,7 \mu\text{mol/L}$) e para o grupo B no momento 6 ($6,9 \pm 4,1 \mu\text{mol/L}$). A análise estatística intra-grupos, indicou para o grupo A diminuição das concentrações de BI nos momentos 2, 5 e 6 ($p < 0,018$), aumento no momento 8 ($p < 0,009$) e para o grupo B diminuição nos momentos 2, 4, 5 e 6 ($p < 0,0129$). Não houve significância entre os grupos A e B, demonstrada na tabela 4 e gráfico 7.

Gráfico 7 - Variação das médias das concentrações de bilirrubina indireta dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase. Segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 4 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos equinos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo – 2006

Momentos	BT ($\mu\text{mol/L}$)		BD ($\mu\text{mol/L}$)		BI ($\mu\text{mol/L}$)	
	A	B	A	B	A	B
1	$18,8 \pm 7,8^{\text{A a}}$ 18,5	$26,2 \pm 20,4^{\text{A a}}$ 21,6	$4,3 \pm 0,2^{\text{A a}}$ 4,3	$5,2 \pm 1,3^{\text{A b}}$ 4,8	$14,5 \pm 7,3^{\text{A a}}$ 14,7	$21,1 \pm 19,7^{\text{A a}}$ 17,1
2	$14,6 \pm 6,7^{\text{A a}}$ 13,0	$13,9 \pm 8,2^{\text{B a}}$ 11,7	$5,7 \pm 1,8^{\text{B a}}$ 5,5	$5,5 \pm 3,4^{\text{A a}}$ 4,0	$8,8 \pm 5,8^{\text{B a}}$ 7,44	$8,5 \pm 5,6^{\text{B a}}$ 7,5
3	$18,5 \pm 10,6^{\text{A a}}$ 15,6	$20,8 \pm 11,0^{\text{A a}}$ 20,3	$4,8 \pm 1,5^{\text{A a}}$ 4,53	$5,5 \pm 3,0^{\text{A a}}$ 4,9	$13,7 \pm 9,9^{\text{A a}}$ 11,3	$15,2 \pm 10,5^{\text{A a}}$ 14,4
4	$13,2 \pm 7,1^{\text{B a}}$ 12,3	$11,8 \pm 4,4^{\text{B a}}$ 12,6	$3,1 \pm 0,8^{\text{B a}}$ 3,0	$2,9 \pm 0,7^{\text{B a}}$ 2,6	$10,1 \pm 7,1^{\text{A a}}$ 10,0	$8,9 \pm 4,4^{\text{B a}}$ 10,1
5	$10,2 \pm 4,8^{\text{B a}}$ 9,1	$11,1 \pm 5,0^{\text{B a}}$ 9,8	$3,4 \pm 0,8^{\text{B a}}$ 3,3	$3,6 \pm 0,7^{\text{B a}}$ 3,4	$6,8 \pm 4,7^{\text{B a}}$ 5,8	$7,5 \pm 4,9^{\text{B a}}$ 6,1
6	$10,7 \pm 3,7^{\text{B a}}$ 11,0	$10,9 \pm 4,5^{\text{B a}}$ 11,37	$3,2 \pm 0,6^{\text{B a}}$ 3,2	$4,0 \pm 1,3^{\text{B b}}$ 3,9	$7,5 \pm 3,3^{\text{B a}}$ 7,3	$6,9 \pm 4,1^{\text{B a}}$ 7,1
7	$15,5 \pm 5,8^{\text{A a}}$ 14,4	$14,7 \pm 6,7^{\text{B a}}$ 13,0	$4,1 \pm 0,^{\text{A a}}$ 4,2	$4,4 \pm 1,1^{\text{B a}}$ 4,1	$11,4 \pm 5,7^{\text{A a}}$ 10,3	$10,3 \pm 6,2^{\text{A a}}$ 9,3
8	$24,0 \pm 6,6^{\text{B a}}$ 22,2	$25,3 \pm 18,2^{\text{A a}}$ 18,4	$4,8 \pm 1,1^{\text{A a}}$ 4,6	$4,8 \pm 0,9^{\text{A a}}$ 4,6	$19,2 \pm 5,9^{\text{B a}}$ 17,6	$20,6 \pm 17,5^{\text{A a}}$ 14,1
9	$19,7 \pm 3,5^{\text{A a}}$ 18,9	$19,7 \pm 7,8^{\text{A a}}$ 17,4	$6,3 \pm 3,2^{\text{A a}}$ 4,4	$5,2 \pm 3,2^{\text{A a}}$ 4,8	$13,4 \pm 3,4^{\text{A a}}$ 13,4	$13,8 \pm 8,0^{\text{A a}}$ 11,3

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

As médias das concentrações de BT na segunda fase oscilaram, tendendo a diminuir após as imunizações, ocorrendo os valores mínimos tanto para o grupo A como para o B no momento 3 (respectivamente $11,4 \pm 2,7 \mu\text{mol/L}$ e $13,6 \pm 7,2 \mu\text{mol/L}$). A análise intra-grupos indicou diminuição das concentrações de BT pra o grupo A nos momentos 3 e 5 ($p < 0,0159$) e para o grupo B nos momentos 3, 5 e 9 ($p < 0,0382$). A análise entre os grupos indicou que as concentrações médias de BT do grupo B foram maiores que as do grupo A nos momentos 4, 7 e 8 ($p < 0,006$), apresentadas tabela 5 e gráfico 8.

Gráfico 8 - Variação das médias das concentrações de bilirrubina total dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase segundo momentos definidos no quadro 2

As médias de BD oscilaram durante toda a segunda fase, apresentando-se mais altas nos momentos de 1 a 3 para ambos os grupos. A avaliação dos resultados intra-grupos indicou para o grupo A diminuição das concentrações de BD no momento 4 ($p<0,0012$), aumento nos momentos 1, 2, 3, 6, 7 e 8 ($p<0,0000$) e para o grupo B aumento das concentrações nos momentos 1, 2, 3, 6 e 7 ($p<0,000$). Na avaliação entre os grupos, houve aumento das concentrações de BD do grupo B em relação ao grupo A nos momentos 3 e 4 ($p<0,0151$), demonstrado na tabela 5 e gráfico 9.

Gráfico 9 - Variação das médias das concentrações de bilirrubina direta dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase segundo momentos definidos no quadro 2

Na segunda fase as médias de BI apresentaram grande amplitude de variação, ocorrendo os valores mínimos tanto para o grupo A como para o B no momento 3 (respectivamente $2,8 \pm 2,3 \mu\text{mol/L}$ e $4,5 \pm 6,5 \mu\text{mol/L}$). A avaliação intra-grupos indicou diminuição das concentrações de BI para o grupo A nos momentos 2, 3, 5 e 6 ($p < 0,0102$) e para o grupo B nos momentos 1, 2, 3, 5 e 6 ($p < 0,031$). A avaliação entre os grupos demonstrou o aumento das concentrações de BI do grupo B em relação ao grupo A nos momentos 4, 7 e 8 ($p < 0,015$), apresentado tabela 5 e gráfico 10.

Gráfico 10 - Variação das médias das concentrações de bilirrubina indireta dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 5 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI) dos equinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	BT ($\mu\text{mol/L}$)		BD ($\mu\text{mol/L}$)		BI ($\mu\text{mol/L}$)	
	A	B	A	B	A	B
0	$18,8 \pm 7,8^{\text{A a}}$ 18,5	$26,2 \pm 20,4^{\text{A a}}$ 21,6	$4,3 \pm 0,2^{\text{A a}}$ 4,3	$5,2 \pm 1,3^{\text{A b}}$ 4,8	$14,5 \pm 7,3^{\text{A a}}$ 14,7	$21,1 \pm 19,7^{\text{A a}}$ 17,1
1	$22,4 \pm 8,9^{\text{A a}}$ 19,5	$21,6 \pm 6,5^{\text{A a}}$ 19,8	$7,7 \pm 2,2^{\text{B a}}$ 8,5	$8,7 \pm 2,5^{\text{B a}}$ 9,8	$14,7 \pm 8,4^{\text{A a}}$ 10,9	$12,8 \pm 6,1^{\text{B a}}$ 11,9
2	$16,6 \pm 6,6^{\text{A a}}$ 16,3	$21,7 \pm 11,6^{\text{A a}}$ 20,1	$8,4 \pm 2,2^{\text{B a}}$ 8,8	$9,6 \pm 3,6^{\text{B a}}$ 10,09	$8,0 \pm 4,9^{\text{B a}}$ 7,3	$12,0 \pm 8,9^{\text{B a}}$ 9,7
3	$11,4 \pm 2,7^{\text{B a}}$ 10,6	$13,6 \pm 7,2^{\text{B a}}$ 11,20	$8,6 \pm 0,8^{\text{B a}}$ 8,8	$9,4 \pm 1,4^{\text{B b}}$ 9,4	$2,8 \pm 2,3^{\text{B a}}$ 1,7	$4,5 \pm 6,5^{\text{B a}}$ 1,62
4	$14,2 \pm 3,4^{\text{A a}}$ 14,62	$21,7 \pm 8,9^{\text{A b}}$ 22,1	$3,4 \pm 0,8^{\text{B a}}$ 3,4	$4,5 \pm 1,9^{\text{A b}}$ 4,0	$10,7 \pm 3,7^{\text{A a}}$ 10,5	$17,2 \pm 9,0^{\text{A b}}$ 18,13
5	$12,3 \pm 4,7^{\text{B a}}$ 10,9	$16,0 \pm 7,6^{\text{B a}}$ 14,8	$4,3 \pm 0,5^{\text{A a}}$ 4,1	$4,7 \pm 1,1^{\text{A a}}$ 4,4	$8,0 \pm 4,2^{\text{B a}}$ 6,8	$11,3 \pm 6,7^{\text{B a}}$ 9,7
6	$13,8 \pm 6,9^{\text{A a}}$ 13,2	$18,3 \pm 8,6^{\text{A a}}$ 17,0	$5,9 \pm 0,9^{\text{B a}}$ 5,8	$6,1 \pm 1,2^{\text{B a}}$ 5,8	$7,9 \pm 6,2^{\text{B a}}$ 6,7	$12,2 \pm 7,9^{\text{B a}}$ 10,6
7	$16,3 \pm 5,2^{\text{A a}}$ 15,4	$22,6 \pm 10,0^{\text{A b}}$ 20,0	$5,7 \pm 0,9^{\text{B a}}$ 5,5	$6,0 \pm 0,5^{\text{B a}}$ 6,0	$10,6 \pm 4,5^{\text{A a}}$ 9,7	$16,6 \pm 9,7^{\text{A b}}$ 14,0
8	$16,4 \pm 5,8^{\text{A a}}$ 15,9	$22,2 \pm 9,3^{\text{A b}}$ 19,76	$5,0 \pm 1,3^{\text{B a}}$ 5,4	$5,5 \pm 1,5^{\text{A a}}$ 5,99	$11,3 \pm 4,7^{\text{A a}}$ 10,4	$16,7 \pm 8,3^{\text{A b}}$ 13,4
9	$16, \pm 6,1^{\text{A a}}$ 15,6	$16,3 \pm 6,9^{\text{B a}}$ 14,4	$4,7 \pm 0,9^{\text{A a}}$ 4,6	$5,8 \pm 2,3^{\text{A a}}$ 5,3	$11,3 \pm 5,7^{\text{A a}}$ 10,5	$10,5 \pm 5,4^{\text{A a}}$ 8,9

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

4.1.3 Proteína total, albumina, globulina total e relação albumina/globulina

Na primeira fase as médias de PT apresentaram pequena amplitude de variação para ambos os grupos experimentais. A análise intra-grupos indicou aumento das concentrações de PT para o grupo A nos momentos 2, 3, 4 e 5 ($p<0,004$) e para o grupo B nos momentos 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 ($p<0,000$). Não houve significância de PT entre os grupos A e B, apresentada na tabela 6 e gráfico 11.

Gráfico 11 - Variação das médias das concentrações de proteína total dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Os valores médios de albumina apresentaram pequena amplitude de variação na primeira fase. A análise intra-grupos demonstrou diminuição das concentrações de albumina para o grupo A nos momentos 5, 6 e 7 ($p<0,020$), para o grupo B diminuição nos momentos 4, 5, 6 e 7 ($p<0,029$) e aumento nos momentos 8 e 9 ($p<0,027$). Não houve significância para albumina entre os grupos A e B, apresentada na tabela 6 e gráfico 12.

Gráfico 12 - Variação das médias das concentrações de albumina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 6 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de proteína total (PT) e albumina (Alb) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo - 2006

Momentos	PT (g/L)		Alb (g/L)	
	A	B	A	B
1	79,04 ± 6,38 ^{A a} 80,92	79,20 ± 6,26 ^{A a} 78,22	32,95 ± 3,97 ^{A a} 33,67	32,85 ± 3,77 ^{A a} 33,50
2	83,86 ± 6,32 ^{B a} 84,21	82,40 ± 6,59 ^{A a} 81,59	32,40 ± 3,03 ^{A a} 31,83	31,81 ± 2,02 ^{A a} 31,78
3	87,05 ± 7,71 ^{B a} 84,75	87,91 ± 7,68 ^{B a} 87,22	32,31 ± 2,89 ^{A a} 31,69	32,34 ± 2,13 ^{A a} 32,09
4	86,77 ± 7,83 ^{B a} 87,69	86,44 ± 8,38 ^{B a} 86,59	30,49 ± 3,04 ^{A a} 29,65	29,27 ± 2,12 ^{B a} 28,81
5	84,90 ± 4,52 ^{B a} 85,72	86,50 ± 8,39 ^{B a} 87,32	29,36 ± 2,70 ^{B a} 28,61	28,45 ± 3,47 ^{B a} 29,16
6	79,27 ± 6,34 ^{A a} 79,06	84,20 ± 10,0 ^{B a} 83,67	28,21 ± 2,41 ^{B a} 28,19	28,82 ± 2,67 ^{B a} 29,06
7	78,98 ± 7,29 ^{A a} 80,22	82,72 ± 7,37 ^{B a} 84,84	30,09 ± 2,47 ^{B a} 30,90	30,74 ± 2,44 ^{B a} 30,43
8	84,63 ± 9,37 ^{A a} 81,53	87,15 ± 7,57 ^{B a} 87,27	33,84 ± 2,52 ^{A a} 33,80	34,42 ± 2,45 ^{B a} 33,77
9	82,65 ± 7,54 ^{A a} 82,52	85,63 ± 7,00 ^{B a} 82,86	33,91 ± 3,07 ^{A a} 34,19	34,91 ± 2,58 ^{B a} 34,33

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

As médias de globulina total oscilaram durante a primeira fase, com os valores mínimos tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 1 (respectivamente $43,21 \pm 12,50$ g/L e $46,35 \pm 6,24$ g/L), os valores máximos para o grupo A no momento 4 ($56,29 \pm 7,79$ g/L) e para o grupo B no momento 5 ($58,05 \pm 8,49$ g/L). A avaliação intra-grupos indicou aumento das concentrações de globulina total para o grupo A nos momentos 2, 3, 4, 5 e 6 ($p < 0,0003$) e para o grupo B nos momentos 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 ($p < 0,000$). Não houve significância para esta variável entre os grupos A e B, apresentada na tabela 7 e gráfico 13.

Gráfico 13 - Variação das médias das concentrações de globulina total dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

As médias da relação albumina/globulina apresentaram pequena amplitude de variação na primeira fase. A avaliação intra-grupos indicou diminuição da relação albumina/globulina para o grupo A nos momentos 4, 5 e 6 ($p < 0,025$) e para o grupo B nos momentos 4 e 5 ($p < 0,032$). Não houve significância para a relação albumina/globulina entre os grupos A e B, apresentada na tabela 7 e gráfico 14.

Gráfico 14 - Variação das médias da relação albumina/globulina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 7 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de globulina total (Glo) e da relação albumina/globulina (Alb/Glo) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo - 2006

Momentos	Glo (g/L)		Alb/Glo	
	A	B	A	B
1	43,21 ± 12,50 ^{A a} 46,00	46,35 ± 6,24 ^{A a} 45,82	0,6756 ± 0,1541 ^{A a} 0,6732	0,6517 ± 0,1544 ^{A a} 0,6827
2	51,46 ± 6,85 ^{B a} 52,32	50,59 ± 6,82 ^{B a} 49,47	0,6435 ± 0,1283 ^{A a} 0,6192	0,6417 ± 0,1130 ^{A a} 0,6351
3	54,74 ± 7,62 ^{B a} 53,54	55,57 ± 8,15 ^{B a} 55,59	0,6025 ± 0,1101 ^{A a} 0,5665	0,5959 ± 0,1125 ^{A a} 0,5769
4	56,29 ± 7,97 ^{B a} 58,13	57,17 ± 8,80 ^{B a} 57,44	0,5550 ± 0,1151 ^{B a} 0,5260	0,5270 ± 0,1146 ^{B a} 0,5155
5	55,54 ± 6,53 ^{B a} 56,39	58,05 ± 8,49 ^{B a} 58,15	0,5409 ± 0,1157 ^{B a} 0,5342	0,5027 ± 0,1128 ^{B a} 0,4696
6	51,07 ± 7,08 ^{B a} 51,51	55,41 ± 10,12 ^{B a} 54,80	0,5665 ± 0,1192 ^{B a} 0,5551	0,5385 ± 0,1204 ^{A a} 0,5050
7	48,89 ± 7,20 ^{A a} 49,69	51,98 ± 7,46 ^{B a} 52,82	0,6295 ± 0,1147 ^{A a} 0,6206	0,6054 ± 0,1156 ^{A a} 0,5736
8	50,79 ± 8,66 ^{A a} 49,36	52,72 ± 6,99 ^{B a} 53,69	0,6824 ± 0,1189 ^{A a} 0,6791	0,6638 ± 0,1014 ^{A a} 0,6359
9	48,73 ± 7,06 ^{A a} 47,90	50,72 ± 6,61 ^{A a} 48,98	0,7096 ± 0,1185 ^{A a} 0,7132	0,6998 ± 0,1100 ^{A a} 0,6828

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

Os valores médios de PT oscilaram durante toda a segunda fase, com os valores mínimos tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 8 (respectivamente $74,04 \pm 5,97$ g/L e $73,04 \pm 4,26$ g/L) e os valores máximos para ambos os grupos A e B no momento 4 (respectivamente $91,58 \pm 6,02$ g/L e $93,57 \pm 7,97$ g/L). A avaliação intra-grupos indicou tanto para o grupo A como para o grupos B diminuição das concentrações de PT no momento 8 (respectivamente $p < 0,032$ e $p < 0,000$), aumento das concentrações para o grupo A nos momentos 3 e 4 ($p < 0,000$) e para o grupo B nos momentos 3, 4 e 5 ($p < 0,000$). Não houve significância PT entre os grupos A e B, apresentada na tabela 8 gráfico 15.

Gráfico 15 - Variação das médias das concentrações de proteína total dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Na segunda fase as médias de albumina apresentaram pequena amplitude de variação. A análise dos resultados intra-grupos indicou diminuição das concentrações de albumina para o grupo A nos momentos 6 e 7 ($p < 0,005$) e para o grupo B no momento 6 ($p < 0,001$). Não houve significância para albumina entre os grupos A e B, apresentada na tabela 8 e gráfico 16.

Gráfico 16 - Variação das médias das concentrações de albumina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 8 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de proteína total (PT) e albumina (Alb) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	PT (g/L)		Alb (g/L)	
	A	B	A	B
0	79,04 ± 6,38 ^{A a} 80,92	79,20 ± 6,26 ^{A a} 78,22	32,95 ± 3,97 ^{A a} 33,67	32,85 ± 3,77 ^{A a} 33,50
1	79,81 ± 5,86 ^{A a} 78,57	79,13 ± 5,79 ^{A a} 77,54	33,47 ± 1,90 ^{A a} 33,69	33,56 ± 2,02 ^{A a} 33,70
2	78,27 ± 7,81 ^{A a} 76,52	80,88 ± 5,07 ^{A a} 79,94	31,13 ± 2,63 ^{A a} 31,61	32,00 ± 2,52 ^{A a} 32,21
3	86,71 ± 8,23 ^{B a} 84,76	89,69 ± 8,19 ^{B a} 89,85	31,68 ± 1,84 ^{A a} 32,14	31,73 ± 1,59 ^{A a} 31,87
4	91,52 ± 6,02 ^{B a} 89,49	93,57 ± 7,97 ^{B a} 94,05	33,77 ± 3,74 ^{A a} 32,91	33,54 ± 3,18 ^{A a} 33,45
5	83,65 ± 7,08 ^{A a} 82,92	85,54 ± 7,60 ^{B a} 84,03	31,17 ± 2,77 ^{A a} 30,57	31,70 ± 3,76 ^{A a} 31,56
6	75,33 ± 6,89 ^{A a} 74,29	79,35 ± 9,22 ^{A a} 81,79	27,19 ± 2,88 ^{B a} 26,86	28,38 ± 2,70 ^{B a} 28,17
7	77,82 ± 7,48 ^{A a} 77,45	80,98 ± 6,82 ^{A a} 80,61	30,05 ± 2,74 ^{B a} 29,36	31,37 ± 1,80 ^{A a} 31,46
8	74,04 ± 5,97 ^{B a} 73,56	73,04 ± 4,26 ^{B a} 72,86	31,14 ± 2,90 ^{A a} 30,72	30,95 ± 2,10 ^{A a} 30,90
9	81,61 ± 6,48 ^{A a} 81,17	80,48 ± 6,73 ^{A a} 80,58	34,83 ± 2,01 ^{A a} 35,15	34,72 ± 3,43 ^{A a} 35,68

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

Os valores médios de globulina total oscilaram durante toda a segunda fase, com as médias mínimas tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 8 (respectivamente $42,90 \pm 5,94$ g/L e $42,09 \pm 4,96$) e os valores máximos para ambos os grupos A e B no momento 4 (respectivamente $57,76 \pm 8,39$ g/L e $60,03 \pm 9,87$). A avaliação intra-grupos indicou aumento de globulina total para o grupo A nos momentos 3, 4 e 5 ($p < 0,002$), para o grupo B diminuição no momento 8 ($p < 0,000$) e aumento nos momentos 3, 4, 5 e 6 ($p < 0,000$). Não houve significância para globulina total entre os grupos A e B, apresentada na tabela 9 e gráfico 17.

Gráfico 17 - Variação das médias das concentrações de globulina total dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Na segunda fase as médias da relação albumina/globulina apresentaram pequena amplitude de variação. A análise dos resultados intra-grupos indicou para o grupo A diminuição da relação albumina/globulina no momento 6 ($p<0,032$) e aumento no momento 9 ($p<0,036$). Não houve significância para a relação albumina/globulina entre os grupos A e B, apresentada na tabela 9 e gráfico 18.

Gráfico 18 - Variação das médias da relação albumina/globulina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 9 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de globulina (Glo) e da relação albumina/globulina (Alb/Glo) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	Glo (g/L)		Alb/Glo	
	A	B	A	B
0	43,21 ± 12,50 ^{A a} 46,00	46,35 ± 6,24 ^{A a} 45,82	0,6756 ± 0,1541 ^{A a} 0,6732	0,6517 ± 0,1544 ^{A a} 0,6827
1	46,34 ± 6,48 ^{A a} 45,93	45,57 ± 5,57 ^{A a} 46,26	0,7376 ± 0,1223 ^{A a} 0,7117	0,7478 ± 0,1125 ^{A a} 0,7424
2	47,14 ± 7,35 ^{A a} 46,47	48,88 ± 4,95 ^{A a} 47,78	0,6756 ± 0,1184 ^{A a} 0,6450	0,6623 ± 0,0973 ^{A a} 0,6357
3	55,03 ± 8,91 ^{B a} 53,82	57,96 ± 8,36 ^{B a} 59,83	0,5926 ± 0,1173 ^{A a} 0,5777	0,5596 ± 0,0954 ^{A a} 0,5225
4	57,76 ± 8,39 ^{B a} 57,35	60,03 ± 9,87 ^{B a} 61,96	0,6038 ± 0,1521 ^{A a} 0,5623	0,5804 ± 0,1469 ^{A a} 0,5272
5	52,48 ± 8,61 ^{B a} 52,08	53,84 ± 9,11 ^{B a} 52,16	0,6161 ± 0,1523 ^{A a} 0,5585	0,6120 ± 0,1633 ^{A a} 0,5774
6	48,15 ± 7,29 ^{A a} 48,69	50,97 ± 9,02 ^{B a} 53,25	0,5808 ± 0,1276 ^{B a} 0,5437	0,5752 ± 0,1234 ^{A a} 0,5548
7	47,77 ± 7,59 ^{A a} 47,18	46,51 ± 14,23 ^{A a} 49,12	0,6469 ± 0,1323 ^{A a} 0,6287	0,6482 ± 0,1247 ^{A a} 0,6141
8	42,90 ± 5,94 ^{A a} 42,60	42,09 ± 4,96 ^{B a} 42,75	0,7424 ± 0,1418 ^{A a} 0,7321	0,7485 ± 0,1270 ^{A a} 0,7317
9	46,78 ± 7,05 ^{A a} 45,84	45,76 ± 6,34 ^{A a} 43,81	0,7638 ± 0,1435 ^{B a} 0,7481	0,7742 ± 0,1423 ^{A a} 0,7749

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

4.1.4 Colesterol e triglicérides

Os valores médios de colesterol oscilaram durante toda a primeira fase. A avaliação intra-grupos indicou diminuição das concentrações de colesterol tanto para o grupo A como para o grupo B nos momentos 3, 4, 5 e 6 (respectivamente $p<0,0418$ e $p<0,0282$) e o aumento das concentrações para o grupo A nos momentos 7, 8 e 9 ($p<0,007$). Não houve significância entre os grupos A e B, demonstrada na tabela 10 e gráfico 19.

Gráfico 19 - Variação das médias das concentrações de colesterol dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

As médias de triglicérides apresentaram grande amplitude de variação na primeira fase. Os valores mínimos ocorreram tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 3 (respectivamente $0,1555 \pm 0,0624$ mmol/L e $0,1451 \pm 0,1546$ mmol/L), os valores máximos para o grupo A no momento 5 ($0,4240 \pm 0,1948$ mmol/L) e para o grupo B no momento 8 ($0,5830 \pm 0,2940$ mmol/L). A análise intra-grupos indicou diminuição das concentrações de triglicérides tanto para o grupo A como para o B no momento 3 (respectivamente $p < 0,020$ e $p < 0,0226$), aumento das concentrações para o grupo A nos momentos 5, 6 e 7 ($p < 0,0053$) e para o grupo B nos momentos 5, 6, 7, 8 e 9 ($p < 0,000$). A análise entre os grupos indicou que a concentração de triglicérides foi maior no grupo B em comparação ao grupo A no momento 8 ($p < 0,001$), demonstrada na tabela 10 e gráfico 20.

Gráfico 20 - Variação das médias das concentrações de triglicérides dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 10 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de colesterol (Col) e triglicérides (Tgl) dos equinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo - 2006

Momentos	(Col) (mmol/L)		(Tgl) (mmol/L)	
	A	B	A	B
1	1,887 ± 0,460 ^{A a} 1,900	1,928 ± 0,433 ^{A a} 1,980	0,2590 ± 0,1540 ^{A a} 0,2543	0,2290 ± 0,1070 ^{A a} 0,2428
2	1,991 ± 0,463 ^{A a} 1,961	1,755 ± 0,562 ^{A a} 1,666	0,3600 ± 0,4550 ^{A a} 0,2118	0,1975 ± 0,2134 ^{A a} 0,0987
3	1,490 ± 0,376 ^{B a} 1,404	1,499 ± 0,441 ^{B a} 1,551	0,1555 ± 0,0624 ^{B a} 0,1575	0,1451 ± 0,1546 ^{B a} 0,1092
4	1,608 ± 0,485 ^{B a} 1,484	1,440 ± 0,310 ^{B a} 1,447	0,2932 ± 0,1157 ^{A a} 0,2665	0,2535 ± 0,1541 ^{A a} 0,2024
5	1,587 ± 0,345 ^{B a} 1,461	1,509 ± 0,295 ^{B a} 1,510	0,4240 ± 0,1948 ^{B a} 0,3545	0,3812 ± 0,0820 ^{B a} 0,3995
6	1,603 ± 0,286 ^{B a} 1,597	1,569 ± 0,198 ^{B a} 1,585	0,4104 ± 0,1451 ^{B a} 0,3719	0,4598 ± 0,1312 ^{B a} 0,4168
7	2,071 ± 0,429 ^{B a} 1,970	1,972 ± 0,273 ^{A a} 1,904	0,3330 ± 0,1100 ^{B a} 0,3338	0,3930 ± 0,1300 ^{B a} 0,3800
8	2,297 ± 0,491 ^{B a} 2,123	2,122 ± 0,276 ^{A a} 2,174	0,2790 ± 0,1640 ^{A a} 0,2447	0,5830 ± 0,2940 ^{Bb} 0,5334
9	2,268 ± 0,486 ^{B a} 2,167	2,077 ± 0,285 ^{A a} 2,116	0,3134 ± 0,1298 ^{A a} 0,2835	0,3971 ± 0,2229 ^{B a} 0,3403

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

Na segunda fase as concentrações médias de colesterol apresentaram pequena amplitude de variação. Para ambos os grupos A e B os valores mínimos ocorreram no momento 6 (respectivamente $1,535 \pm 0,246$ mmol/L e $1,578 \pm 0,124$ mmol/L) e os valores máximos no momento 9 (respectivamente $2,361 \pm 0,430$ e $2,294 \pm 0,356$). A análise dos valores de colesterol intra-grupos indicou diminuição das concentrações de colesterol tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 6 (respectivamente $p < 0,000$ e $p < 0,002$), aumento das concentrações para o grupo A nos momentos 8 e 9 ($p < 0,000$) e para o grupo B nos momentos 2 e 9 ($p < 0,005$). Não houve significância entre os grupos A e B, demonstrada na tabela 11 e gráfico 21.

Gráfico 21 - Variação das médias das concentrações de colesterol dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Os valores médios de triglicérides apresentaram grande amplitude de variação para ambos os grupos experimentais na segunda fase, ocorrendo a média mais baixa para o grupo A no momento 9 ($0,0492 \pm 0,0536$ mmol/L), para o grupo B no momento 8 ($0,0672 \pm 0,0563$ mmol/L) e as médias mais altas tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 5 (respectivamente $0,6250 \pm 0,6300$ mmol/L e $0,6067 \pm 0,1371$ mmol/L). Os resultados analisados intra-grupos indicaram diminuição das concentrações de triglicérides tanto para o grupo A como para o grupo B nos momentos 8 e 9 (respectivamente $p < 0,001$ e $p < 0,0001$), aumento das concentrações para o grupo A nos momentos 1, 4, 5, 6 e 7 ($p < 0,0001$) e para o grupo B nos momentos 1, 3, 4, 5 e 6, ($p < 0,000$) e para o grupo B nos momentos 1, 3, 4, 5 e 6, ($p < 0,000$). A avaliação entre os grupos indicou diminuição das concentrações de triglicérides do grupo B em relação ao grupo A nos momentos 1 e 7 ($p < 0,038$) e aumento das concentrações do grupo B em relação ao grupo A no momento 3 ($p < 0,0358$), segundo tabela 11 e gráfico 22.

Gráfico 22 - Variação das médias das concentrações de triglicérides dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 11 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de colesterol (Col) e triglicérides (Tgl) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	(Col) (mmol/L)		(Tgl) (mmol/L)	
	A	B	A	B
0	1,887 ± 0,460 ^{A a} 1,900	1,928 ± 0,433 ^{A a} 1,980	0,2590 ± 0,1540 ^{A a} 0,2543	0,2290 ± 0,1070 ^{A a} 0,2428
1	2,090 ± 0,405 ^{A a} 2,071	2,054 ± 0,239 ^{A a} 2,009	0,4430 ± 0,1270 ^{B a} 0,4501	0,3350 ± 0,1070 ^{B b} 0,3362
2	2,107 ± 0,378 ^{A a} 2,081	2,195 ± 0,290 ^{B a} 2,120	0,2565 ± 0,0751 ^{A a} 0,2901	0,2782 ± 0,0585 ^{A a} 0,2901
3	1,984 ± 0,315 ^{A a} 1,902	1,928 ± 0,293 ^{A a} 1,880	0,3156 ± 0,2018 ^{A a} 0,2547	0,3441 ± 0,1240 ^{B b} 0,3197
4	1,966 ± 0,351 ^{A a} 1,943	1,978 ± 0,313 ^{A a} 2,024	0,3986 ± 0,0712 ^{B a} 0,3993	0,4475 ± 0,0781 ^{B a} 0,4471
5	1,943 ± 1,387 ^{A a} 1,743	1,731 ± 0,494 ^{A a} 1,702	0,6250 ± 0,6300 ^{B a} 0,4624	0,6067 ± 0,1371 ^{B a} 0,5792
6	1,535 ± 0,246 ^{B a} 1,483	1,578 ± 0,214 ^{B a} 1,600	0,4250 ± 0,1524 ^{B a} 0,3769	0,4160 ± 0,1309 ^{B a} 0,3817
7	1,986 ± 0,349 ^{A a} 1,960	1,976 ± 0,188 ^{A a} 1,959	0,4330 ± 0,1790 ^{B a} 0,4298	0,3130 ± 0,1200 ^{A b} 0,3182
8	2,123 ± 0,476 ^{B a} 1,925	1,998 ± 0,273 ^{A a} 2,052	0,1139 ± 0,1591 ^{B a} 0,0409	0,0672 ± 0,0563 ^{B a} 0,0451
9	2,361 ± 0,430 ^{B a} 2,313	2,294 ± 0,356 ^{B a} 2,277	0,0492 ± 0,0536 ^{B a} 0,03015	0,0835 ± 0,0606 ^{B a} 0,08155

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

4.2 FUNÇÃO RENAL

Os tópicos a seguir descrevem os resultados de uréia e creatinina.

4.2.1 Uréia e creatinina

As médias de uréia oscilaram durante toda a primeira fase. A análise dos resultados desta variável intra-grupos indicou para o grupo A diminuição das concentrações de uréia no momento 3 ($p<0,0418$), aumento nos momentos 7 e 8 ($p<0,0019$) e para o grupo B aumento nos momentos 7, 8 e 9 ($p<0,000$). A avaliação dos resultados desta variável entre os grupos, indicou aumento das concentrações de uréia no grupo B em relação ao grupo A nos momentos 7 e 8 ($p<0,000$), apresentadas na tabela 12 e gráfico 23.

Gráfico 23 - Variação das médias das concentrações de uréia dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Os valores médios de creatinina oscilaram durante toda a primeira fase. A avaliação dos resultados intra-grupos indicou aumento das concentrações de creatinina para o grupo A nos momentos 5, 6, 7, 8 e 9 ($p<0,000$) e para o grupo B nos momentos 5, 6, 7 e 8 ($p<0,000$). A análise entre os grupos indicou o aumento de creatinina do grupo A em relação ao B no momento 6 ($p<0,048$), apresentado na tabela 12 e gráfico 24.

Gráfico 24 - Variação das médias das concentrações de creatinina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 12- Valores médios, desvio padrão e mediana de uréia e creatinina (Crea) dos equínos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo - 2006

Momentos	Uréia (mmol/L)		Crea (μ mol/L)	
	A	B	A	B
1	6,666 $\pm$ 1,804 ^{A a} 5,863	6,931 $\pm$ 1,244 ^{A a} 6,860	163,80 $\pm$ 15,80 ^{A a} 165,31	160,40 $\pm$ 15,00 ^{A a} 161,77
2	5,470 $\pm$ 1,690 ^{A a} 5,367	6,690 $\pm$ 2,040 ^{A a} 7,107	161,30 $\pm$ 17,90 ^{A a} 159,56	155,80 $\pm$ 20,80 ^{A a} 152,05
3	5,500 $\pm$ 1,160 ^{B a} 5,323	6,460 $\pm$ 1,580 ^{A a} 6,185	162,60 $\pm$ 14,40 ^{A a} 160,01	161,10 $\pm$ 14,80 ^{A a} 156,47
4	6,623 $\pm$ 1,013 ^{A a} 6,280	7,318 $\pm$ 1,248 ^{A a} 7,080	160,60 $\pm$ 26,70 ^{A a} 151,61	153,20 $\pm$ 21,80 ^{A a} 147,19
5	6,790 $\pm$ 1,040 ^{A a} 6,558	7,110 $\pm$ 1,750 ^{A a} 7,174	179,51 $\pm$ 14,34 ^{B a} 175,48	170,94 $\pm$ 19,81 ^{B a} 172,38
6	6,420 $\pm$ 1,190 ^{A a} 6,245	7,250 $\pm$ 1,270 ^{A a} 7,185	180,90 $\pm$ 18,40 ^{B a} 177,24	168,50 $\pm$ 15,80 ^{Bb} 169,73
7	7,482 $\pm$ 0,935 ^{B a} 7,244	8,620 $\pm$ 1,660 ^{B b} 8,290	179,00 $\pm$ 16,60 ^{B a} 179,46	170,80 $\pm$ 16,60 ^{B a} 172,83
8	8,552 $\pm$ 0,848 ^{B a} 8,803	10,020 $\pm$ 1,190 ^{B b} 9,603	190,50 $\pm$ 22,00 ^{B a} 193,16	182,20 $\pm$ 16,90 ^{B a} 181,67
9	7,220 $\pm$ 1,210 ^{A a} 6,893	8,460 $\pm$ 2,540 ^{B a} 7,879	175,7 $\pm$ 15,30 ^{B a} 173,27	170,90 $\pm$ 16,60 ^{A a} 4,20

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

As médias de uréia oscilaram durante toda a segunda fase, ocorrendo os valores mínimos tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 8 (respectivamente $5,976 \pm 0,714$ mmol/L e $6,737 \pm 0,965$ mmol/L), os valores máximos para o grupo A no momento 1 ($8,718 \pm 0,909$ mmol/L) e para o grupo B no momento 7 ($8,859 \pm 0,907$ mmol/L). Os resultados de uréia analisados intra-grupos indicaram aumento das concentrações de uréia para o grupo A nos momentos 1, 5, 7 e 9 ($p < 0,000$) e para o grupo B nos momentos 1, 5, 6, 7 e 9 ($p < 0,000$). A avaliação dos resultados desta variável entre os grupos indicou aumento das concentrações de uréia do grupo B em relação ao grupo A nos momentos 7, 8 e 9 ($p < 0,008$), apresentado na tabela 13 e gráfico 25.

Gráfico 25 - Variação das médias das concentrações de uréia dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Os valores de creatinina na segunda fase apresentaram grande amplitude de variação. As médias mínimas desta variável ocorreram tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 8 (respectivamente $132,71 \pm 9,60 \mu\text{mol/L}$ e $129,60 \pm 11,00 \mu\text{mol/L}$), as médias máximas ocorreram no momento 4 para o grupo A ($181,99 \pm 13,05 \mu\text{mol/L}$) e no momento 1 para o grupo B ($184,60 \pm 21,10 \mu\text{mol/L}$). A avaliação dos resultados intra-grupos indicou diminuição das concentrações de creatinina tanto para o grupo A como para o grupo B nos momentos 7, 8 e 9 ($p < 0,006$ para ambos os grupos), aumento das concentrações para o grupo A nos momentos 1, 3, 4 e 5 ($p < 0,002$) e para o grupo B nos momentos 1, 4 e 5 ($p < 0,000$). Não houve significância entre os grupos A e B, apresentada na tabela 13 e gráfico 26.

Gráfico 26 - Variação das médias das concentrações de creatinina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 13- Valores médios, desvio padrão e mediana de uréia, uréia nitrogenada e creatinina dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	Uréia (mmol/L)		Crea (μ mol/L)	
	A	B	A	B
0	6,666 $\pm$ 1,804 ^{A a} 5,863	6,931 $\pm$ 1,244 ^{A a} 6,860	163,80 $\pm$ 15,80 ^{A a} 165,31	160,40 $\pm$ 15,00 ^{A a} 161,77
1	8,718 $\pm$ 0,909 ^{B a} 8,832	8,460 $\pm$ 1,250 ^{B a} 8,441	178,20 $\pm$ 15,30 ^{B a} 179,89	184,60 $\pm$ 21,10 ^{B a} 185,64
2	6,610 $\pm$ 1,110 ^{A a} 6,525	7,140 $\pm$ 1,060 ^{A a} 7,153	168,60 $\pm$ 17,90 ^{A a} 167,08	165,70 $\pm$ 17,70 ^{A a} 165,75
3	7,187 $\pm$ 0,872 ^{A a} 7,229	7,210 $\pm$ 1,300 ^{A a} 7,094	177,20 $\pm$ 15,90 ^{B a} 174,59	167,70 $\pm$ 14,30 ^{A a} 172,83
4	6,740 $\pm$ 1,020 ^{A a} 6,598	7,470 $\pm$ 1,500 ^{A a} 7,126	181,99 $\pm$ 13,05 ^{B a} 178,13	177,30 $\pm$ 15,02 ^{B a} 178,13
5	7,710 $\pm$ 0,964 ^{B a} 7,573	7,873 $\pm$ 0,858 ^{B a} 7,931	175,10 $\pm$ 14,00 ^{B a} 171,50	171,70 $\pm$ 12,80 ^{B a} 172,82
6	7,244 $\pm$ 0,863 ^{A a} 7,422	7,970 $\pm$ 1,160 ^{B a} 8,051	157,57 $\pm$ 13,51 ^{A a} 155,14	157,41 $\pm$ 16,10 ^{A a} 162,22
7	8,120 $\pm$ 1,020 ^{B a} 7,908	8,859 $\pm$ 0,907 ^{B b} 8,592	149,20 $\pm$ 16,50 ^{B a} 148,51	149,50 $\pm$ 15,70 ^{B a} 152,93
8	5,976 $\pm$ 0,714 ^{A a} 6,068	6,737 $\pm$ 0,965 ^{A b} 6,679	132,71 $\pm$ 9,60 ^{B a} 132,16	129,60 $\pm$ 11,00 ^{B a} 129,95
9	7,647 $\pm$ 0,841 ^{B a} 7,764	8,630 $\pm$ 1,100 ^{B b} 8,407	149,50 $\pm$ 13,60 ^{B a} 145,86	143,80 $\pm$ 13,80 ^{B a} 143,21

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

4.3 FERRO E TRANSFERRINA

As médias de ferro apresentaram grande amplitude de variação na primeira fase. Após o início das imunizações elas baixaram em ambos os grupos, apresentando os valores mínimos tanto para o grupo A como para o B no momento 3 (respectivamente $22,02 \pm 6,90 \mu\text{mol/L}$ e $20,54 \pm 6,53 \mu\text{mol/L}$). A partir do momento 4, estas médias aumentaram gradativamente até atingir os valores máximos para ambos os grupos A e B no momento 8 (respectivamente $41,72 \pm 8,28 \mu\text{mol/L}$ e $49,10 \pm 20,24 \mu\text{mol/L}$). Os resultados avaliados intra-grupos indicaram diminuição das concentrações de ferro tanto para o grupo A como para o B no momento 3 (respectivamente $p < 0,006$ e $p < 0,001$) e aumento das concentrações para ambos os grupos A e B nos momentos 7, 8 e 9 (respectivamente $p < 0,001$ e $p < 0,000$). Não houve significância entre os grupos A e B, apresentada na tabela 14 e gráfico 27.

Gráfico 27 - Variação das médias das concentrações de ferro dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Os valores médios de transferrina apresentaram grande amplitude de variação na primeira fase, aumentando após o momento 2, permanecendo altos durante toda a fase para ambos os grupos A e B chegando praticamente a triplicar no momento 9 (respectivamente $35,50 \pm 11,25 \mu\text{mol/L}$ e $39,93 \pm 11,58 \mu\text{mol/L}$) em relação ao momento 1 (respectivamente $12,30 \pm 10,20 \mu\text{mol/L}$ e $11,32 \pm 8,80 \mu\text{mol/L}$). Os resultados desta variável avaliados intra-grupos indicaram aumento das concentrações de transferrina para o grupo A nos momentos 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 9 ($p < 0,000$) e para o grupo B nos momentos 4, 5, 6, 8 e 9 ($p < 0,000$). A análise entre os grupos determinou o aumento da concentração de transferrina do grupo A em relação ao grupo B no momento 2 ($p < 0,041$), apresentado na tabela 14 e gráfico 28.

Gráfico 28 - Variação das médias das concentrações de transferrina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 14 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de ferro (Fe) e transferrina (Trf) dos eqüinos produtores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo - 2006

Momentos	(Fe) ($\mu\text{mol/L}$)		(Trf) ($\mu\text{mol/L}$)	
	A	B	A	B
1	29,11 $\pm$ 9,22 ^{A a} 31,16	29,17 $\pm$ 8,65 ^{A a} 28,85	12,30 $\pm$ 10,20 ^{A a} 8,88	11,32 $\pm$ 8,80 ^{A a} 10,35
2	27,89 $\pm$ 11,94 ^{A a} 22,75	26,79 $\pm$ 8,84 ^{A a} 23,34	20,90 $\pm$ 13,90 ^{B a} 19,04	12,23 $\pm$ 7,82 ^{A b} 11,82
3	22,02 $\pm$ 6,90 ^{B a} 21,22	20,54 $\pm$ 6,53 ^{B a} 21,34	21,60 $\pm$ 11,00 ^{B a} 24,40	18,40 $\pm$ 13,00 ^{A a} 15,05
4	28,00 $\pm$ 10,42 ^{A a} 24,54	34,39 $\pm$ 17,95 ^{A a} 31,11	24,80 $\pm$ 17,10 ^{B a} 21,47	20,30 $\pm$ 10,40 ^{B a} 22,00
5	30,30 $\pm$ 10,70 ^{A a} 30,07	33,70 $\pm$ 10,30 ^{A a} 35,06	23,14 $\pm$ 13,23 ^{B a} 20,23	23,08 $\pm$ 15,31 ^{B a} 23,98
6	30,73 $\pm$ 8,09 ^{A a} 30,60	34,20 $\pm$ 9,27 ^{A a} 33,05	21,60 $\pm$ 12,90 ^{B a} 18,47	20,00 $\pm$ 15,30 ^{B a} 20,59
7	40,70 $\pm$ 12,70 ^{B a} 36,13	44,50 $\pm$ 12,40 ^{B a} 42,54	16,94 $\pm$ 14,32 ^{A a} 11,09	20,01 $\pm$ 13,71 ^{A a} 12,93
8	41,72 $\pm$ 8,28 ^{B a} 41,57	49,10 $\pm$ 20,24 ^{B a} 42,01	25,70 $\pm$ 11,70 ^{B a} 27,68	26,40 $\pm$ 14,70 ^{B a} 30,13
9	38,64 $\pm$ 8,81 ^{B a} 38,96	35,90 $\pm$ 10,20 ^{B a} 33,58	35,50 $\pm$ 11,25 ^{B a} 37,09	39,93 $\pm$ 11,58 ^{B a} 39,99

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

Na segunda fase as médias de ferro apresentaram grande amplitude de variação, principalmente para o grupo B. Os valores médios desta variável apresentam diminuição a partir do momento 2, com os valores mais baixos para o grupo A no momento 6 ($26,39 \pm 6,53 \mu\text{mol/L}$) e para o grupo B no momento 2 ($22,01 \pm 7,32 \mu\text{mol/L}$), aumentando para ambos os grupos de forma gradativa a partir do momento 3, com as médias mais altas tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 5 (respectivamente $49,52 \pm 19,69 \mu\text{mol/L}$ e $66,37 \pm 24,06 \mu\text{mol/L}$). A análise dos resultados intra-grupos indicou aumento das concentrações de ferro para o grupo A nos momentos 1, 4, 5 e 9 ($p < 0,000$), para o grupo B diminuição no momento 2 ($p < 0,0249$) e aumento nos momentos 4, 5 e 7 ($p < 0,000$). A análise entre os grupos determinou a diminuição das concentrações de ferro do grupo B em relação ao A nos momentos 1 e 2 ($p < 0,0110$) e aumento das concentrações do grupo B em relação ao A nos momentos 4, 5 e 6 ($p < 0,020$), apresentado na tabela 15 e gráfico 29.

Gráfico 29 - Variação das médias das concentrações de ferro dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Os valores médios de transferrina apresentaram grande amplitude de variação na segunda fase, partindo do momento 1 com os valores altos para ambos os grupos, permanecendo altos até o momento 3, ocorrendo as médias mais altas no momento 2 tanto para o grupo A como para o B (respectivamente $45,26 \pm 11,40 \mu\text{mol/L}$ e $52,96 \pm 9,87$), baixando gradativamente a partir do momento 4, ocorrendo as médias mais baixas para o grupo A no momento 9 ($6,55 \pm 4,99 \mu\text{mol/L}$) e para o grupo B no momento 7 ($8,78 \pm 7,67 \mu\text{mol/L}$). A avaliação intra-grupos indicou para o grupo A diminuição das concentrações de transferrina no momento 9 ($p < 0,043$), aumento das concentrações nos momentos 1, 2, 3 e 6 ($p < 0,0000$) e para o grupo B aumento das concentrações nos momentos 1, 2, 3, 4 e 5 ($p < 0,000$). A análise entre os grupos indicou que houve aumento das concentrações de transferrina do grupo B em relação ao A no momento 1 ($p < 0,026$), apresentado na tabela 15 e gráfico 30.

Gráfico 30 - Variação das médias das concentrações de transferrina dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 15 - Valores médios, desvio padrão, e mediana de ferro (Fe) e transferrina (Trf) dos equinos produtores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	(Fe) ($\mu\text{mol/L}$)		(Trf) ($\mu\text{mol/L}$)	
	A	B	A	B
0	29,11 $\pm$ 9,22 ^{A a} 31,16	29,17 $\pm$ 8,65 ^{A a} 28,85	12,30 $\pm$ 10,20 ^{A a} 8,88	11,32 $\pm$ 8,80 ^{A a} 10,35
1	35,50 $\pm$ 8,39 ^{B a} 35,52	28,38 $\pm$ 4,52 ^{A b} 27,70	37,36 $\pm$ 11,26 ^{B a} 38,73	44,71 $\pm$ 4,78 ^{B b} 45,99
2	28,64 $\pm$ 8,23 ^{A a} 27,87	22,01 $\pm$ 7,32 ^{B b} 20,73	45,26 $\pm$ 11,40 ^{B a} 48,34	52,96 $\pm$ 9,87 ^{B a} 55,20
3	32,33 $\pm$ 8,51 ^{A a} 30,28	32,03 $\pm$ 6,53 ^{A a} 30,78	39,82 $\pm$ 11,26 ^{B a} 41,49	40,41 $\pm$ 9,10 ^{B a} 42,01
4	46,30 $\pm$ 14,10 ^{B a} 43,54	59,90 $\pm$ 21,20 ^{B b} 53,31	25,59 $\pm$ 18,91 ^{A a} 20,10	33,43 $\pm$ 17,70 ^{B a} 32,94
5	49,52 $\pm$ 19,69 ^{B a} 44,18	66,37 $\pm$ 24,06 ^{B b} 61,96	20,03 $\pm$ 15,01 ^{A a} 15,57	29,83 $\pm$ 17,60 ^{B a} 25,92
6	26,39 $\pm$ 6,53 ^{A a} 24,54	32,63 $\pm$ 7,76 ^{A b} 34,37	20,25 $\pm$ 9,99 ^{B a} 20,58	18,17 $\pm$ 11,44 ^{A a} 17,64
7	38,87 $\pm$ 14,22 ^{A a} 31,58	37,94 $\pm$ 8,47 ^{B a} 35,10	9,33 $\pm$ 7,03 ^{A a} 8,62	8,78 $\pm$ 7,67 ^{A a} 6,71
8	32,39 $\pm$ 6,62 ^{A a} 31,25	28,59 $\pm$ 4,93 ^{A a} 28,48	10,47 $\pm$ 7,28 ^{A a} 9,39	14,40 $\pm$ 7,59 ^{A a} 13,16
9	35,86 $\pm$ 5,36 ^{B a} 35,91	33,58 $\pm$ 5,52 ^{A a} 32,86	6,55 $\pm$ 4,99 ^{B a} 6,15	10,06 $\pm$ 8,75 ^{A a} 7,06

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

4.4 PESO

Os valores médios de peso oscilaram durante toda a primeira fase, apresentando as médias mais altas tanto para o grupo A como para o B no momento 9 (respectivamente $420,8 \pm 27,7$ Kg e $443,1 \pm 34,2$ Kg). A avaliação dos resultados de peso intra-grupos indicou seu aumento tanto para o grupo A como para o B nos momentos 7, 8 e 9 (respectivamente $p < 0,003$ e $p < 0,000$). Não houve significância entre os grupos A e B, demonstrada na tabela 16 e gráfico 31.

Gráfico 31 - Variação das médias de peso dos equinos soroprodutores dos grupos A e B na primeira fase segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 16 - Valores médios, desvio padrão, e mediana dos pesos dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B, na primeira fase - São Paulo - 2006

Momentos	Peso (Kg)	
	A	B
1	406,6 ± 28,5 ^{A a} 411,5	420,4 ± 37,9 ^{A a} 415,5
2	409,4 ± 30,1 ^{A a} 413,0	425,6 ± 38,5 ^{A a} 425,5
3	406,5 ± 27,2 ^{A a} 408,0	418,5 ± 38,7 ^{A a} 419,0
4	402,8 ± 28,3 ^{A a} 410,0	416,4 ± 37,8 ^{A a} 416,0
5	405,1 ± 28,3 ^{A a} 412,0	419,0 ± 36,0 ^{A a} 417,0
6	404,5 ± 29,2 ^{A a} 413,0	417,38 ± 38,44 ^{A a} 415,0
7	414,3 ± 28,6 ^{B a} 420,0	432,5 ± 36,0 ^{B a} 430,0
8	417,5 ± 27,6 ^{B a} 422,0	437,1 ± 35,0 ^{B a} 431,0
9	420,8 ± 27,7 ^{B a} 427,0	443,1 ± 34,2 ^{B a} 437,0

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 1 e os demais momentos (de 2 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

As médias de peso na segunda fase apresentaram grande amplitude de variação, com os valores mais baixos tanto para o grupo A como para o grupo B no momento 4 (respectivamente $414,1 \pm 28,5$ Kg e $432,9 \pm 34,1$ Kg) e os valores mais altos para ambos os grupos A e B no momento 9 (respectivamente $448,0 \pm 31,6$ Kg e $471,0 \pm 36,0$ Kg). A análise de peso intra-grupos indicou o aumento de peso para o grupo A nos momentos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 e 9 ($p < 0,000$) e para o grupo B em todos os momentos da segunda fase, de 1 a 9 ($p < 0,000$). A análise entre os grupos indicou que a média de peso do grupo B aumentou em relação ao grupo A no momento 8 ($p < 0,039$), demonstrado na tabela 17 e gráfico 32.

Gráfico 32 - Variação das médias de peso dos eqüinos soroprodutores dos grupos A e B na segunda fase, segundo momentos definidos no quadro 2

Tabela 17 - Valores médios, desvio padrão, e mediana dos pesos dos equinos soroprodutores dos grupos A e B, na segunda fase - São Paulo - 2006

Momentos	Peso (Kg)	
	A	B
0	406,6 ± 28,5 ^{A a} 411,5	420,4 ± 37,9 ^{A a} 415,5
1	433,6 ± 28,5 ^{B a} 438,0	450,5 ± 38,6 ^{B a} 442,0
2	427,8 ± 30,3 ^{B a} 431,0	441,0 ± 34,7 ^{B a} 437,0
3	425,1 ± 30,1 ^{B a} 432,0	441,1 ± 34,9 ^{B a} 437,0
4	414,1 ± 28,5 ^{A a} 416,0	432,9 ± 34,1 ^{B a} 431,0
5	417,1 ± 28,7 ^{B a} 423,0	434,4 ± 34,5 ^{B a} 429,0
6	420,4 ± 29,4 ^{B a} 424,0	435,5 ± 33,9 ^{B a} 437,0
7	432,0 ± 31,7 ^{B a} 427,0	454,8 ± 33,6 ^{B a} 451,0
8	437,6 ± 31,4 ^{B a} 430,0	462,9 ± 34,7 ^{B b} 459,0
9	448,0 ± 31,6 ^{B a} 439,0	471,0 ± 36,0 ^{B a} 467,0

Os momentos de 1 a 3 se referem às imunizações, os momentos 4 a 6 se referem às sangrias de produção e os momentos de 7 a 9 se referem ao período de descanso dos animais (respectivamente 15, 30 e 45 dias após a última sangria).

^{a, b} Letras diferentes na mesma linha entre os dois grupos experimentais A e B denotam significância para $p < 0,05$.

^{A, B} Letras diferentes na mesma coluna entre o momento 0 e os demais momentos (de 1 a 9) denotam significância para $p < 0,05$.

5 DISCUSSÃO

As dietas de animais de companhia, produção e esporte têm sido estudadas e aprimoradas. Porém, o incremento de proteína na dieta de animais principalmente dos que praticam atividades esportivas é controverso. Existe um raciocínio de que os animais que realizam atividades físicas necessitem de incremento protéico na dieta, porém esta hipótese não foi comprovada (GRAHAM-THIERS et al., 2003; MILLER; LAWRENCE, 1988; PATTERSON et al., 1985). Entretanto, no que diz respeito a cavalos soroprodutores não existe um consenso com relação ao teor de proteínas que deva ser administrado na dieta desta categoria de animais. Muitos trabalhos relacionando excesso de proteínas na dieta de eqüinos que praticam atividades físicas têm sido realizados, porém nenhum trabalho relacionando eqüinos soroprodutores com altas concentrações de proteína na dieta foi encontrado na literatura compulsada.

Tendo os cavalos soroprodutores papel de grande importância na Saúde Pública, e sendo escassa a literatura com esta categoria de animais, principalmente no que diz respeito às suas exigências nutricionais e avaliação bioquímica, pretendeu-se, com o presente estudo, aprofundar estes aspectos, comparando os resultados bioquímicos encontrados, com os de outras pesquisas que avaliaram a bioquímica clínica de: eqüinos alimentados com diferentes teores de PB (principalmente cavalos que praticam esporte) e cavalos soroprodutores em produção.

5.1 FUNÇÃO HEPÁTICA

Os itens a seguir discutem os resultados das provas de função hepática analisadas estatisticamente, relacionando-os com a literatura compulsada.

5.1.1 Aspartato-aminotransferase

Os resultados estatísticos determinaram a ausência de significância das concentrações de AST entre os grupos A e B durante a pesquisa, indicando que os teores de proteína nas dietas não interferiram na atividade desta enzima. Após o início das imunizações, as médias desta variável para ambos os grupos A e B tenderam a diminuir,

aumentando no período de descanso dos animais tanto na primeira como na segunda fase. (Tabelas 2-3 e Gráficos 1 e 3). Estes resultados sugerem que as imunizações influenciaram nas concentrações de AST, concordando com o trabalho de Sahal et al. (2004) que determinaram a diminuição das concentrações de AST (chegando a diminuir 4,2 vezes) após as imunizações em cavalos soroprodutores inoculados com toxóide tetânico. Discordando do trabalho de Abdelkader et al. (1991), que determinaram experimentalmente que as imunizações com culturas de *E. coli* e *P. multocida* não interferem nas concentrações de AST em cavalos soroprodutores. A diferença entre o resultado de Sahal et al. (2004) e da presente pesquisa com o resultado de Abdelkader et al. (1991), pode estar relacionada ao tipo de antígeno inoculado.

5.1.2 Gama-glutamilttransferase

A análise estatística indicou o aumento dos valores de GGT do grupo A em relação ao B apenas no momento 2 ($p < 0,007$) da primeira fase da pesquisa (Tabela 3 e Gráfico 4), sugerindo que em geral o teor protéico das dietas não interferiu de forma significativa nas concentrações desta variável. Durante a avaliação dos resultados intra-grupos houve grande amplitude de variação de GGT, que apresentou tendência a aumentar após o início das imunizações nas duas fases, para ambos os grupos experimentais, sendo que em alguns momentos as suas concentrações chegaram a dobrar com relação ao momento inicial do estudo, atingindo no momento 8 da primeira fase para o grupo A as concentrações de $18,65 \pm 14,48$ U/L e para o grupo B as concentrações de $18,19 \pm 8,26$ U/L (Tabela 2 e Gráfico 2). Estes resultados sugerem que as imunizações levaram ao aumento da atividade de GGT, concordando com os trabalhos de Abdelkader et al. (1991) e Kampl et al. (1995), que demonstraram que a atividade desta enzima aumenta com o decorrer das imunizações em cavalos soroprodutores.

Abdelkader et al. (1991), provaram que os cavalos soroprodutores avaliados sofreram processo de colestase (evidenciado pelo aumento dos níveis séricos de GGT) devido à compressão que a deposição de amilóide sérico exerceu sobre o fígado dos animais. Segundo Doxey (1985) e Meyer (1992), processos de colestase aumentam a atividade de GGT em todas as espécies animais, sugerindo para a presente pesquisa, que os animais principalmente durante a fase de produção de plasma-hiperimune estejam sofrendo agressões hepáticas que possam ocasionar processos de colestase. Porém, são necessárias

outras pesquisas avaliando além das concentrações de GGT, as concentrações de fosfatase alcalina por períodos de tempo maiores, para determinar a ocorrência desta enfermidade em cavalos soroprodutores.

5.1.3 Bilirrubina total

As médias das concentrações de BT tenderam a diminuir após o início das imunizações nas duas fases da pesquisa, para ambos os grupos experimentais (Tabelas 4 e 5 e Gráficos 5 e 8), sugerindo que os processos de imunização levaram a diminuição das concentrações de BT, discordando dos trabalhos de Abdelkader et al. (1991), que concluíram que as imunizações com culturas de *E. coli* e *P. multocida* não alteram os valores de BT, e Parra (2005) que concluiu que as imunizações e sangrias de produção não interferem significativamente nas concentrações de bilirrubina total em cavalos soroprodutores inoculados com antígeno crotálico. Esta diferença de resultados pode estar associada ao tipo de antígeno inoculado nos animais das pesquisas citadas e do presente estudo.

Na segunda fase da pesquisa, houve tendência das concentrações médias de BT serem maiores para o grupo B quando comparadas ao grupo A, com significância nos momentos 4, 7 e 8 ($p < 0,006$), sugerindo a interferência da ração no aumento das concentrações desta variável.

5.1.4 Bilirrubina direta

Durante a pesquisa, houve uma tendência das concentrações de BD serem maiores no grupo B em relação ao grupo A, com significância nos momentos 1 e 6 ($p < 0,034$) da primeira fase (Tabela 4 e Gráfico 6) e nos momentos 3 e 4 ($p < 0,0151$) da segunda fase (Tabela 5 e Gráfico 9), sugerindo a interferência da concentração de proteína das dietas nestes resultados.

As avaliações intra-grupos das concentrações de BD apresentaram resultados diferentes entre as fases. Na primeira fase, para ambos os grupos experimentais, as concentrações de BD tenderam a aumentar no período de imunização, diminuindo em todos os momentos referentes às sangrias de produção. Já na segunda fase, as concentrações de BD aumentaram nos períodos de imunização e no momento referente à última sangria de

produção, tendendo a aumentar no período de descanso dos animais. Estes resultados discordam do trabalho de Parra (2005), que determinou que as concentrações de BD não sofrem influência significativa das imunizações e sangrias de produção em cavalos soroprodutores imunizados com veneno crotálico.

O aumento sérico de BD certamente está associado ao processo de produção de plasma-hiperimune. Segundo Hagiwara (1982), em processos hemolíticos e colestáticos pode haver o aumento sérico desta variável. Para o presente estudo, este aumento é sugestivo de um processo colestático, pois também houve o aumento da atividade de GGT durante o processo de produção de plasma-hiperimune.

5.1.5 Bilirrubina indireta

A análise estatística das concentrações de BI intra-grupos indicou durante a pesquisa, uma tendência das concentrações desta variável diminuírem após o início das imunizações e, nos momentos referentes às sangrias de produção em ambos os grupos experimentais. Estes resultados sugerem que as imunizações e sangrias de produção interferiram em suas concentrações, discordando do trabalho realizado por Parra (2005), que determinou que as concentrações de BI não sofrem influência significativa das imunizações ou sangrias de produção em cavalos inoculados com veneno crotálico.

Na segunda fase da pesquisa a avaliação dos resultados entre os grupos indicou uma tendência das concentrações de BI do grupo B serem maiores em relação ao grupo A, com significância nos momentos 4, 7 e 8 ($p < 0,015$) (Tabela 5 e Gráfico 10), sugerindo que os teores protéicos das dietas interferiram nestes resultados.

5.1.6 Proteína total

Apesar das médias de PT apresentarem pequena amplitude de variação durante a pesquisa, houve aumento das suas concentrações na avaliação intra-grupos em ambos os grupos experimentais, principalmente nos momentos relacionados às sangrias de produção (Tabelas 6 e 8 e Gráficos 11 e 15). Estes resultados sugerem que o aumento de PT ocorreu relacionado às imunizações. Como a PT é a somatória dos valores de albumina e globulina total (KANEKO, 1997), provavelmente seu aumento foi influenciado pelo aumento de globulina total devido ao estímulo antigênico das imunizações.

Não houve significância para PT entre os grupos durante toda a pesquisa, concordando com os trabalhos de Graham-Thiers et al. (2000, 2003), Patterson et al. (1985) e Olsman et al. (2003), que através de estudos provaram que os aumentos dos teores de proteína bruta na dieta de eqüinos, não influenciam nas concentrações plasmáticas de proteína total.

5.1.7 Albumina

Durante a pesquisa, os valores médios de albumina apresentaram pequena amplitude de variação, contudo a análise estatística intra-grupos indicou para ambos os grupos A e B, diminuição das concentrações desta variável principalmente nos momentos referentes às sangrias de produção (Tabelas 6 e 8 e Gráficos 12 e 16), sugerindo que o aumento de globulina total tenha interferido nas concentrações de albumina, que tenderam a diminuir quando as concentrações de globulina total aumentaram, pois em geral existe uma relação inversamente proporcional entre as concentrações de albumina e globulina total (KANEKO, 1997).

Em nenhum momento da pesquisa houve significância de albumina entre os grupos A e B, concordando com Graham-Thiers et al. (2000, 2003), Patterson et al. (1985) e Olsman et al. (2003) que afirmam que o aumento de proteína bruta na dieta de eqüinos não interfere na síntese de albumina pelo fígado.

5.1.8 Globulina total

As médias de globulina total oscilaram durante toda a pesquisa, aumentando após o início das imunizações, atingindo as concentrações máximas para ambos os grupos entre os momentos 3, 4 e 5 das duas fases (Tabelas 7 e 9 e Gráficos 13 e 17). Baseando-se na afirmação de que as γ -globulinas são formadas em sua maioria pelo sistema imune, sendo as imunoglobulinas componentes deste grupo (KANEKO, 1997), sugere-se que o processo de produção e plasma-hiperimune levou a alterações nas concentrações de globulina total, pois os momentos 4 e 5 referem-se às sangrias de produção, onde sabidamente os títulos de anticorpos apresentam-se mais altos durante o processo de produção de plasma-hiperimune.

A avaliação entre os grupos demonstrou que não houve significância para globulina total durante a pesquisa. Portanto, não foi possível comprovar que o teor protéico das rações tenha interferido em suas concentrações, concordando com o trabalho de Patterson et

al. (1985) que provaram que o aumento do teor protéico na alimentação de cavalos não interfere nos valores de globulina total.

Poderia-se esperar uma menor produção de globulinas em animais com menor índice nutricional, no entanto a análise estatística entre os grupos indicou não haver significância entre as rações, ocorrendo os maiores picos de globulina total para ambos os grupos experimentais nos momentos de sangria de produção, sugerindo que ambas as rações foram satisfatórias para a resposta imune.

5.1.9 Relação albumina/globulina

Os valores médios da relação albumina/globulina no transcorrer da pesquisa apresentaram pequena amplitude de variação, tendendo a diminuir para ambos os grupos A e B nos momentos relacionados às sangrias de produção, principalmente na primeira fase (Tabelas 7 e 9 e Gráficos 14 e 18). Provavelmente esta diminuição está relacionada às alterações que o processo de produção de plasma-hiperimune ocasionou na relação albumina/globulina.

A avaliação dos resultados entre os grupos A e B indicou que não houve significância desta variável durante a pesquisa, concordando com o trabalho de Patterson et al. (1985) que provaram que a relação albumina/globulina não é influenciada pelo aumento de PB na dieta de equinos.

5.1.10 Colesterol

Os valores médios de colesterol oscilaram durante toda a pesquisa, com tendência a diminuir para ambos os grupos A e B durante os períodos de imunização e sangria de produção principalmente na primeira fase e, a aumentar no período de descanso dos animais (Tabelas 10 e 11 e Gráficos 19 e 21), discordando dos resultados da pesquisa realizada por Sahal et al. (2004) que avaliaram as concentrações de colesterol em cavalos soroprodutores, concluindo que os valores médios de colesterol dos animais aumentaram após as imunizações. Essa discordância de resultados pode estar relacionada a fatores diferenciais entre os animais da pesquisa de Sahal et al. (2004) e do presente estudo como: a) tipo de antígeno inoculado, b) protocolo de imunização, c) esquema de descanso dos animais e, d) tempo de utilização dos animais em produção.

Entretanto, Sahal et al. (2004) afirmaram que durante o estudo, alguns cavalos apresentaram diminuição das concentrações de colesterol, sugerindo que estes desenvolveram hepatite. O fígado é o principal órgão que sintetiza o colesterol (MEYER et al., 1992), então processos inflamatórios ou infecciosos que levem a disfunção deste órgão podem induzir a diminuição das concentrações plasmáticas desta variável. Os eqüinos soroprodutores da presente pesquisa tenderam a apresentar diminuição das concentrações de colesterol durante o processo de produção de plasma-hiperimune, sugerindo que houve alteração da função hepática neste período.

A avaliação das concentrações de colesterol entre os grupos A e B, demonstrou que não houve significância para esta variável durante a pesquisa, sugerindo que os teores protéicos das dietas não interferiram na síntese de colesterol entre os grupos experimentais estudados.

5.1.11 Triglicérides

As médias de triglicérides apresentaram grande amplitude de variação para ambos os grupos A e B, tanto na primeira como na segunda fase. Entretanto, as fases não seguiram um padrão com relação aos momentos em que as concentrações de triglicéides tenderam a aumentar e diminuir na avaliação intra-grupos (Tabelas 10 e 11 e Gráficos 20 e 22). Apesar das concentrações desta variável não terem aumentado e diminuído seguindo um padrão entre as fases, os resultados avaliados permitem supor que houve interferência do processo de produção de plasma-hiperimune em suas concentrações.

A avaliação entre os grupos determinou na primeira fase o aumento das concentrações de triglicérides do grupo B em relação ao A no momento 8 ($p < 0,001$), na segunda fase diminuição das concentrações de triglicérides do grupo B em relação ao grupo A nos momentos 1 e 7 ($p < 0,038$) e aumento no momento 3 ($p < 0,0358$). Como os momentos em que esta variável aumentaram e diminuíram foram muito distintos entre as fases da pesquisa, não foi possível determinar se houve interferência do teor protéico das dietas nestes resultados.

Esperava-se determinar a ocorrência do processo de lipidose nestes animais em decorrência das imunizações, contudo as fases de produção avaliadas apresentaram comportamentos muito distintos, sendo impossível determiná-lo. Estudos com cavalos soroprodutores por períodos de tempo maiores são necessários para determinar a ocorrência desta enfermidade nesta categoria de animais.

5.2 FUNÇÃO RENAL

Os itens a seguir discutem os resultados das provas de função renal analisadas estatisticamente, relacionando-os com a literatura compulsada.

5.2.1 Uréia

Durante a pesquisa, as médias de uréia na avaliação intra-grupos foram significativas principalmente no período de descanso dos animais, tendendo a aumentar tanto para o grupo A como para o grupo B (Tabelas 12-13 e Gráficos 23 e 25), discordando do trabalho de Sahal et al. (2004) que determinaram que as concentrações de uréia diminuem após as imunizações em cavalos soroprodutores. No presente estudo, houve diminuição das concentrações de uréia em apenas um momento relacionado ao período imunização dos animais do grupo A. Esta diferença de resultados pode estar relacionada a fatores diferenciais entre o presente estudo e a pesquisa de Sahal et al. (2004) como: a) a concentração de proteína bruta fornecida na dieta dos animais, b) o tipo de antígeno inoculado, c) o protocolo de imunização, d) o esquema de descanso dos animais e, e) o tempo de utilização dos animais em produção.

A análise dos resultados entre os grupos durante a pesquisa, indicou que as médias das concentrações de uréia tenderam a aumentar no grupo B quando comparados ao grupo A no período de descanso dos animais, com significância nos momentos 7 e 8 ($p < 0,000$) da primeira fase e nos momentos 7, 8 e 9 ($p < 0,008$). Concordando com os trabalhos de Graham-Thiers et al. (2000, 2003), Miller e Lawrence (1988), Nelson e Tyznik (1971), Patterson et al. (1985) e Olsman et al. (2003) que determinaram através de experimentação com eqüinos, que as concentrações de uréia plasmática aumentam quando se elevam as concentrações de proteína bruta na dieta e, com a afirmação de Finco (1997) e Fannesbeck e Symons (1969) que dietas com alto teor protéico aumentam as concentrações plasmáticas de uréia.

5.2.2 Creatinina

A avaliação dos resultados intra-grupos na primeira fase indicou o aumento das concentrações de creatinina para o grupo A nos momentos 5, 6, 7, 8 e 9 ($p < 0,000$) e para o grupo B nos momentos 5, 6, 7 e 8 ($p < 0,000$). E na segunda fase diminuição das concentrações de creatinina tanto para o grupo A como para o grupo B nos momentos 7, 8 e 9 ($p < 0,006$ para ambos os grupos), aumento das concentrações para o grupo A nos momentos 1, 3, 4 e 5 ($p < 0,002$) e para o grupo B nos momentos 1, 4 e 5 ($p < 0,000$) (Tabelas 12-13 e Gráficos 24 e 26). Estes resultados permitem afirmar que o processo de produção de plasma-hiperimune interferiu nas concentrações de creatinina intra-grupos. Entretanto, as duas fases foram muito distintas com relação aos momentos em que as concentrações desta variável diminuíram e aumentaram, sendo impossível determinar se estas alterações foram causadas por alguma enfermidade decorrente do processo de produção de plasma-hiperimune. Avaliações das concentrações de creatinina, em cavalos soroprodutores, por períodos de tempo maiores são necessárias, para definir melhor em que momentos que estas concentrações se alteram relacionando estas alterações com possíveis enfermidades.

A análise estatística indicou significância entre os grupos A e B em apenas um momento da pesquisa, permitindo afirmar que não existem evidências suficientes de que os teores de proteína bruta na dieta tenham interferido nas concentrações de creatinina entre os grupos estudados durante o presente estudo, concordando com os trabalhos de Graham-Thiers et al. (2000, 2003), Patterson et al. (1985), e Olsman et al. (2003), que provaram que o aumento de proteína bruta na dieta de equinos não interfere nas concentrações plasmáticas de creatinina.

5.3 FERRO E TRANSFERRINA

As concentrações médias de ferro e transferrina tenderam a se comportar de modo inversamente proporcional durante a pesquisa. Nos momentos de imunização, as médias de ferro tenderam a diminuir e as de transferrina a aumentar, e contrariamente nos período de sangrias de produção, as médias de ferro tenderam aumentar e as de transferrina a diminuir (Tabelas 14-15 e Gráficos de 27-30). Concordando com os resultados do trabalho de Parra (2005), que afirmou que as concentrações de ferro e transferrina se comportaram de modo inversamente proporcional durante o processo de produção de plasma-hiperimune

antiveneno crotálico, concluindo que os animais desenvolveram anemia ferropriva durante o processo de sangria de produção. Como na presente pesquisa não foram determinados os valores de eritograma dos eqüinos, não é possível afirmar se os cavalos desenvolveram anemia ferropriva durante os períodos de sangria de produção. Com relação aos momentos referentes às imunizações dos animais, houve uma tendência das concentrações de ferro diminuírem e de transferrina aumentarem. Baseando-se nas afirmações de Cheville (2004) e Smith (1997), que em doenças infecciosas e processos inflamatórios ocorre a diminuição da disponibilidade de ferro pela ação de macrófagos para impedir o acesso de microorganismos ao ferro e desviar o ferro lábil para a síntese de ferritina, supõe-se que as concentrações de ferro tenderam a diminuir e de transferrina a aumentar em decorrência do seqüestro de ferro estimulado pela inoculação de antígeno diftérico.

A análise estatística entre os grupos indicou significância das concentrações de ferro apenas na segunda fase da pesquisa, com a diminuição das concentrações do grupo B em relação ao A nos momentos 1 e 2 ($p < 0,0110$) e aumento das concentrações do grupo B em relação ao A nos momentos 4, 5 e 6 ($p < 0,020$) (Tabela 15 e Gráfico 29). E para a transferrina, houve significância das concentrações entre os grupos A e B em apenas dois momentos da pesquisa, com o aumento das concentrações do grupo A em relação ao grupo B no momento 2 ($p < 0,041$) da primeira fase (tabela 14 e gráfico 28), e aumento das concentrações do grupo B em relação ao A no momento 1 ($p < 0,026$) da segunda fase (Tabela 15 e Gráfico 30). Como não houve um padrão de comportamento nas alterações destas variáveis entre os grupos; com relação aos momentos em que elas aumentaram e diminuíram, não foi possível relacionar possíveis interferências dos diferentes teores de proteína das dietas com as concentrações plasmáticas de ferro e transferrina e, nem determinar ao certo, a razão do aumento e diminuição destas concentrações, sendo necessárias outras pesquisas por períodos de tempo maiores para compreender o significado destes fenômenos.

5.4 PESO

A avaliação dos resultados de peso intra-grupos indicou na primeira fase o aumento desta variável tanto para o grupo A como para o B nos momentos 7, 8 e 9 (respectivamente $p < 0,003$ e $p < 0,000$), na segunda fase o aumento de peso para o grupo A nos momentos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 e 9 ($p < 0,000$) e para o grupo B em todos os momentos, de 1 a 9 ($p < 0,000$) (Tabelas

16-17 e Gráficos 31-32). Como houve diferença de manejo alimentar entre a primeira e a segunda fase no que diz respeito ao volumoso fornecido aos animais dos dois grupos, alimentado-os na segunda fase com capim ao invés de feno, sugere-se que o aumento de peso na segunda fase seja decorrente desta alteração nas dietas dos animais.

A análise de peso durante o estudo entre os grupos, indicou a ocorrência de significância em apenas um momento, impossibilitando determinar se os concentrados interferiram de maneira diferente nos pesos dos animais.

6 CONCLUSÕES

A pesquisa desenvolvida para avaliar se o concentrado com teor de 22% de PB fornecido aos equinos soroprodutores do Instituto Butantan é adequado, ou causa sobrecarga hepática e renal nos animais alterando sua performance produtiva, e as possíveis alterações das variáveis avaliadas durante o processo de produção de plasma-hiperimune, permitiu que se determinassem as conclusões detalhadas a seguir.

Concluiu-se que apesar de terem ocorrido significâncias entre os grupos A e B para determinadas variáveis e em determinados momentos da pesquisa, elas não foram suficientes para afirmar se o concentrado com 22% de proteína bruta causa sobrecarga hepática e renal nos animais.

Os dois grupos de animais avaliados durante a pesquisa apresentaram respostas semelhantes com relação à performance produtiva e a recuperação orgânica.

Todas as variáveis avaliadas no transcorrer da pesquisa sofreram alterações durante o processo de produção de plasma-hiperimune, evidenciadas através do aumento e/ou diminuição em suas concentrações. Algumas variáveis demonstraram-se muito sensíveis ao estímulo do processo de produção sofrido pelos animais, como a GGT, AST, bilirrubina direta, colesterol e triglicérides, indicando alterações funcionais principalmente no fígado dos animais dos dois grupos avaliados, aventando possibilidades futuras do desenvolvimento de processos como a colestase e deposição de substância amilóide neste órgão. Com relação à função renal, observou-se que as concentrações de creatinina sofreram grande influência do processo de produção de plasma-hiperimune, sendo um indício do possível desenvolvimento de enfermidades nos rins com o decorrer das imunizações.

REFERÊNCIAS

- ABDELKADER, S. V.; GUDDING, R.; NORDSTOGA, K. Clinical Chemical Constituents in Relation to Liver Amyloidosis in Serum-producing Horses. **Journal Comph. Pathology**, v. 105, p. 203-211, 1991.
- ADEOLA, O.; YOUNG, L. G. Dietary Protein-induced Changes in Porcine Muscle Respiration, Protein Synthesis and Adipose Tissue Metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 664-673, 1988.
- ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAIN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 20, p. 470-475, 1974.
- BERGMAYER, H. U. **Methoden der enzymatischen analyse weirhein**. Verlag Chemie: Aufl Bd I, 1974. v. 3, p. 769.
- BIRGEL, E. H. Patologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 2, 5.
- BOVÉE, K. C. Influence of Dietary Protein on Renal Function in dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 121, n. 11, p. S128 - S139, 1991.
- BRAGA, A. **Soros-vacinas alérgenos e imunógenos**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola do ministério da Agricultura, 1943. cap. 1, p. 37-43.
- BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. Chap 4, p. 87- 89, 91, 97- 98.
- CARDOSO, D. F.; YAMAGUCHI, I. K.; SILVA, A. M. M. Produção de soros antitoxinas e perspectivas de modernização por técnicas de biologia molecular. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD, J. V. **Animais Peçonhentos no Brasil. Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 36, p. 367.
- CARROL, E. J.; KANEKO, J. J. The clinical significance of serum protein fractionation by electrophoresis. **The California Veterinarian**, v. 21, n. 1, p. 22-23, 1967.
- CHARLTON, M. Branched-chain amino acid-enriched supplements as therapy for liver disease: rasputin lives. **Gastroenterology**, v. 123, n. 7, p. 1980-1982, 2003.
- CHEVILLE, N. F. **Introdução à Patologia Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2004. cap. 4, p. 125.
- CHIPPAUX, J. P.; GOYFFON, M. Venoms: antivenoms and immunotherapy. **Toxicon**, v. 36, n. 6, p. 823-846, 1998. Review article.
- COLES, E. H. **Veterinary clinical pathology**. Philadelphia: Saunders, 1986. p. 139.

DOUMAS, I. B. T.; BIGGES, H.G. **Standard methods of clinical chemistry**. London: Academic Press, 1972. p. 175-188.

DOXEY, D. L. **Patologia clínica e métodos de diagnóstico**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985. cap. 3, p. 45-48.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Veterinary Laboratory Medicine**. Ames: Iowa State University Press, 1977. p. 217.

FAU, D.; PERET, J.; HADJIISKY, P. Effects of Ingestion of High Protein or Excess Methionine Diets by Rats for Two Years. **The Journal of Nutrition**, v. 118, n. 1, p. 128-133, 1988.

FINCO, D. R. Kidney function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. chap 17, p. 453, 468.

FONNESBECK, P. V.; SYMONS, L. D. Effect of diet on concentration of protein, urea nitrogen, sugar and cholesterol of blood plasma of horses. **Journal Animal Science**, v. 28, p. 216-219, 1969.

FOSSATI, P.; PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical Chemistry**, v. 28, p. 2077-2080, 1982.

FRAPE, D. **Equine nutrition and feeding**. New York: Longman Scientific & Technical, 1986. chap. 2, p. 27-33.

FREEMAN, D. W.; POTTER, G. D.; SCHELLING, G. T.; KREIDER, J. L. Nitrogen metabolism in mature horses at varying levels of work. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 407-412, 1988.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, Guia de doenças. Disponível em: <<http://www.pgr.mpf.gov.br/pgr/saude/doencas/difteria.htm>>. acesso em: 30 ago. 2004.

GALLAGHER, K.; LEECH, J.; STOWE, H. Protein, energy and dry matter consumption by racing thoroughbreds: a field survey. **Journal Equine Veterinary Science**, v. 12, p. 43-48, 1992.

GALVÃO, P. M.; ALMEIDA, F.Q.; OLIVEIRA, C. A.; LIMA, J. R. P. A.; VIEIRA, A. A.; ADESE, B.; SANTOS, T. M. Avaliação de dietas para equinos de uso militar em atividade física moderada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1492-1499, 2004.

GRAHAM-THIERS, P. M.; KRONFELD, D. S.; KLINE, K. A.; SKALAN, D. J.; HARRIS, P. A. Protein status of exercising arabian horses fed diets containig 14% or 7,5% crude protein fortified with lysine and threonine. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 20, n. 8, p. 516-521, 2000.

GRAHAM-THIERS, P. M.; KRONFELD, D. S.; KLINE, K. A.; SKALAN, D. J.; HARRIS, P. A. Dietary protein and fat effects on protein status in arabian horses during interval training and repeated sprints. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 23, n. 12, p. 554-559, 2003.

HAGIWARA, M. K. Bioquímica clínica. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**, São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 92-98.

HANSEN, B. C.; LEWIS, A. J. Effects of dietary protein concentration (Corn: soybean meal ratio) on the performance and carcass characteristics of growing boars, barrows, and gilts: mathematical descriptions. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 2122-2132, 1993.

HINTZ, H. F. Nutrition and equine performance. **The Journal of Nutrition**, v. 124, n. 12 p. 2723S-2729S, 1994.

HOLM, E. A.; SOLLING, K. Dietary protein restriction and the progression of chronic renal insufficiency: a review of the literature. **Journal of Internal Medicine**, v. 239, n. 2 p. 99-104, 1996.

HOUSEHOLDER, D. Performance horses need protein, but not too much. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 16, n. 1, p. 40-42, 1996.

IWASAKI, K.; GLEISER, C. A.; MASORO, E. J.; YU, B. P. Dietary protein and cronic nephropathy in rats. **Feding Proceedings**, v. 45, p. 829, 1986. abst. 3925.

JENDRASSIK, L.; GROF, P. Verainfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins. **Biochemische Zeitschrift**, v.297, n.1-2, p.81-9, 1938.

KAMPL, B.; DOMINIS-KRAMARIC, M.; BACAR-HUSKIC, L. Leucocyte alkaline phosphatase and serum γ -glutamyl transferase activities in horses used for production of hyper immune sera. **Berliner-und-Munchener-Tierarztliche-Wochenschrift**, v. 108, p. 290-293, 1995.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. Chap 5, p. 120, 124-130, 134, 135.

KLINE, K. H. Horse nutrition and health. Horse feeds and feeding. **Feedstuffs**, v. 15, p. 48-51, 2004.

LENTINE, K.; WRONE, E. M. New insights into protein intake and progression of renal disease. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 13, n. 3, p. 333-336, 2004.

LEWIS, L. D. **Nutrição clínica eqüina - alimentação e cuidados**. São Paulo: Editora Roca, 2000. cap. 1, p. 23.

LONGO, J. C. Difteria. In: VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. cap. 45, p. 367, 370- 372, 377.

LUTSGARTEN, J. A.; WENK, R. E. Simple, rapid, kinetic method for serum creatinine measurement. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 1419-1422, 1972.

MARCHESINI, G.; MARZOCCHI, R.; NOIA, M.; BIANCHI, G. Branched-chain amino acid supplementation in patients with liver diseases. **Journal of Nutrition**, v. 135, n. 6S 1596S- 1601S, 2005.

MARONI, B. J.; MITCH, W. E. Role of nutrition in prevention of the progression of renal disease. **Annual Review Nutrition**, v. 17, p. 435- 455, 1997.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Veterinary Laboratory Medicine- Interpretation and Diagnosis**. Philadelphia: W. B. Saunders Compan, 1992. chap 5, p. 56-68.

MEYER, H. **Alimentação dos cavalos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 1995. cap. 7, p. 269.

MILLER, P. A.; LAWRENCE, L. M. The effect of dietary protein level on exercising horses. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 2185-2192, 1988.

MINITAB. **Statistical Software, Release 14 for Windows**. Pennsylvania: State College, 2003.

NRC- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of horses**. 5th ed. Washington DC: NRC-NAS, p. 7-9, 1989.

NELSON, D. D.; TYZNIK, W. J. Protein and nonprotein nitrogen utilization in the horse. **Journal of Animal Science**, v. 3, p. 68-73, 1971.

OLSMAN, A. F. S.; JANSEN, W. L.; OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, S. V. Assessment of the minimum protein requirement of adult ponies. **Journal Animal Physiology Animal Nutrition**, v. 87, p. 205-212, 2003.

OTT, E. A. Horse nutrition. Dietary nutrient allowances for horses. **Feedstuffs**, v. 19, p. 77-80, 1995.

OTT, E. A. Influence of temperature stress on the energy and protein metabolism and requirements of the working horse. **Livestock Production Science**, v. 92, p. 123-130, 2005.

PARRA, A. C. **Variações da crase sanguínea durante a hiperimunização e após sangria e plasmaferese em eqüinos de produção de soro hiperimune anti-crotálico**. 2005. 94 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PATTERSON, P. H.; COON, C. N.; HUGHES, I. M. Protein requirements of mature working horses. **Journal of Animal Science**, v. 61, n. 1, p. 187-196, 1985.

PETRIE, A.; WATSON, P. **Statistics for veterinary and animal science**. London: Blackwell Science, 1999. chap 7 e 8, p. 81, 82, 83, 138-139.

RALSTON, S. L. Clinical nutrition of adult horses. **Veterinary clinics of North America: Equine Practice**, v. 6, n. 2, 339-355, 1990.

RAW, I.; GUIDOLIN, R.; HIGASHI, H. G.; KELEN, E. M. A. Antivenins in Brazil: preparation. In: TU, A. T. **Reptile Venoms and Toxins. Handbook of Natural Toxins**. New York: Library of Congress, 1991. cap. 18, p. 557-558.

REY, F.; HALLEBEEK, J. M.; BEYNEN, A. C. Apparent digestibility of crude fibre in ponies fed either a low or high-protein diet. **Journal Animal Physiology Animal Nutrition**, v. 85, p. 251-254, 2001.

REY, L. **Planejar e Redigir Trabalhos Científicos**. 2. ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2003. cap. 5, p. 67-72.

RUSSO, M. Propriedades gerais do sistema imune. In: CALICH, V.; VAZ, C. **Imunologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. cap.1, p.1.

SAHAL, M.; ALTINTAS, A.; ARSLAN, H. H.; URAL, K.; AKSOY, E. Serum hepatitis associated with administration of tetanus toxin in serum producing horses and therapy. **Revue Médecine Vétérinaire**, v. 155, n. 10, p. 476-482, 2004.

SMITH, J. E. Iron metabolism and its disorders. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. Chap. 9, p. 223- 224, 233- 236.

SOUTHWOOD, L.; EVANS, D.; BRYDEN, W.; ROSE, R. Nutrient intake of horses in Thoroughbred and Standardbred stables. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, p. 164-168, 1993.

STOCKHAM, S. L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 11, n. 3, p. 391-415, 1995.

STRUFALDI, B. **Prática de bioquímica clínica**. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1987. p. 154.

SZASZ, G. A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl transpeptidase. **Clinical Chemistry**, v. 15, n. 2, p. 124-35, 1969.

TALKE, H.; SCHUBERT, G. E. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serum im optischen test nach warburg. **Klinische Wochenschrift**, v. 43, n. 174, p. 174-175, 1965.

TENNANT, B. C. Hepatic function In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. Chap. 13, p. 329-332, 337- 338, 341- 342, 346.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária (uma introdução)**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1998. cap. 5, p. 49-50, 284-391.

WEN, F. H. Soroterapia. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD, J. V. **Animais peçonhentos no brasil. Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 37, p. 380- 381.

YOUNG, V. R.; MARCHINI, J. S.; CORTIELLA, J. Assessment of protein nutritional status. **Journal of Nutrition**, v. 120, n. 11S, p. 1496-1502, 1990.

ANEXOS

ANEXO A - Ração com 15% de Proteína Bruta

Nível de Garantia (por kg do produto)

Proteína Bruta min.	15%	Cálcio máximo	1,5%
Extrato Etéreo min.	2%	Fósforo mínimo	0,5%
Enriquecimento (por kg do produto)			
Vitamina A	9.000 UI	Metionina	3,00 mg
Vitamina D	2.250 UI	Triptofano	1,00 mg
Vitamina E	750 mg	Cobre	45,00 mg
Vitamina B1	4,00 mg	Zinco	60,00 mg
Vitamina B2	4,00 mg	Magnésio	30,00 mg
Vitamina B12	15,00 meg	Ferro	15,00 mg
Biotina	0,40 mg	Manganês	30,00 mg
Colina	140,00 mg	Cobalto	3,00 mg
Niacina	15,00 mg	Selênio	0,09 mg
Ácido Pantotênico	15,00 mg	Iodo	0,40 mg
Lisina	5,00 mg		

-Composição Básica do Produto: aveia, farelo de soja, farelo de trigo, feno de gramíneas, melaço, milho integral moído, fosfato bicálcico, cloreto de sódio (sal comum), carbonato de cálcio, Premix Vitamínico Mineral.

ANEXO B - Ração com 22% de Proteína Bruta

Componentes: farelo de trigo, farelo de soja, milho, sal, fosfato de bicálcio, feno de alfafa, premix vitamínico, premix mineral.

Proporções de Ingredientes Componentes:

Milho (quirera): mínimo 43%

Farelo de soja: mínimo 25%

Farelo de trigo: máximo 20%

Fosfato: média 1,5%

Calcáreo: média 2%

Sal: 1%

Protenose: máximo 10%

Feno de Alfafa: apenas para ajuste dos níveis de fibra.

Componentes Substitutos: nenhum

Níveis de Garantia por Quilo do Produto:

Umidade máxima: 13%

Proteína Bruta mínima: 22%

Estrato Etéreo mínimo: 2,0%

Matéria Fibrosa máxima: 8,0%

Matéria Fibrosa mínima: 5,0%

Cálcio máximo: 1,5%

Fósforo mínimo: 0,65%

Matéria Mineral máxima: 15%

Elementos Componentes por Quilo do Produto:

Energia Digestível: 33,08 Kcal/kg

Proteína Bruta mínima: 22%

Fibra mínimo: 6%- máximo: 8%

Cálcio mínimo: 1,2%- máximo: 1,5%

Fósforo mínimo: 0,60%- máximo: 0,80%

Potássio: 0,933%

Cloro: 0,041%

Sódio: 0,19 mg

Magnésio: 0,19 mg

Enxofre: 0,21 mg

Cobre: 15,24 mg

Ferro: 65,05 mg/kg

Manganês: 17,4 mg/kg

Selênio: 0,14 mg/kg

Zinco: 21,22 mg/kg

Biotina: 0,181 mg/kg

Colina: 1,386 mg/kg

Folacina: 0,342 mg/kg

Enriquecimento por Quilograma do Produto:

Vitamina A: 3,700 UI

Vitamina D: 275 UI

Vitamina E: 15 mg

Vitamina C: 600 mg

Riboflavina: 4 mg

Tiamina: 150 mg

Ácido Fólico: 0,5 mg

Vitamina B12: 15 mg

Niacina: 44,94 mg/kg

Ácido Pantotênico: 9,913 mg/kg

Piridoxina: 7,35 mg/kg

Riboflavina: 2,209 mg/kg

Tiamina: 4,287 mg/kg

Vitamina E: 11,976 UI/kg

Arginina: 2,091%

Histidina: 0,678%

Isoleucina: 1,284%

Leucina: 2,217%

Lisina: 1,424%

Metionina: 0,426%

Cistina: 0,462

Fenilalanina: 1,299%

Tirosina: 0,903%

Treonina: 1,025%

Triptofano: 0,320%

Valina: 1,284%

Sódio: 0,19 mg

Magnésio: 0,19 mg

Enxofre: 0,21 mg

Ferro: 65,05 mg

Selênio: 0,14 mg

Cobre: 15,24 mg

Manganês: 17,40 mg

Zinco: 21,22 mg