

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

ANNE GRACE SILVA SIQUEIRA CAMPOS

**ESTUDO HEMATOLÓGICO E PROTEINOGRAMA SANGUÍNEO E DO
COLOSTRO DE OVELHAS SUPLEMENTADAS COM PROPILENO GLICOL
E COM COBALTO ASSOCIADO À VITAMINA B₁₂ E DE SUAS
RESPECTIVAS CRIAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientadora:
Dr^a. Carla Lopes de Mendonça

**RECIFE
2014**

Ficha catalográfica

C198a Campos, Anne Grace Silva Siqueira
Estudo hematológico e proteinograma sanguíneo e
do colostro de ovelhas suplementadas com propileno glicol e
com cobalto associado à vitamina B₁₂ e de suas respectivas
crias / Anne Grace Silva Siqueira Campos. – Recife, 2014.
124 f. : il.

Orientador(a): Carla Lopes de Mendonça.
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
Veterinária, Recife, 2014.
Inclui anexos(s) e referências.

1. Colostro 2. Cordeiro 3. Eletroforese em gel de
poliacrilamida 4. Imunoglobulinas 5. Hemograma
6. Pequenos ruminantes 7. Período de transição 8. Proteína
de fase aguda

I. Mendonça, Carla Lopes de, orientadora II. Título

CDD 636.089

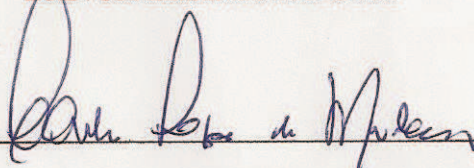
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**ESTUDO HEMATOLÓGICO E PROTEINOGRAMA SANGUÍNEO E DO
COLOSTRO DE OVELHAS SUPLEMENTADAS COM PROPILENO GLICOL
E COM COBALTO ASSOCIADO À VITAMINA B₁₂ E DE SUAS
RESPECTIVAS CRIAS**

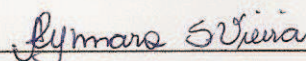
Tese de Doutorado elaborada por
ANNE GRACE SILVA SIQUEIRA CAMPOS

Aprovada em: 26/02/2014

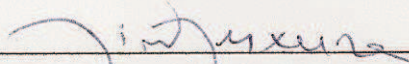
BANCA EXAMINADORA



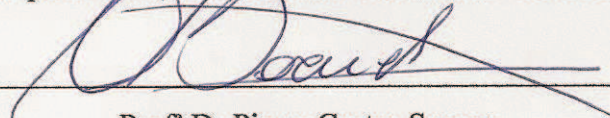
Dr^a Carla Lopes de Mendonça
Orientadora – Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns – UFRPE



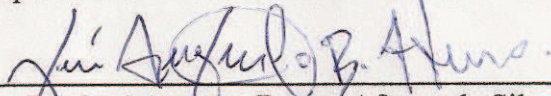
Dr^a. Aerlem Cynnara Silva Vieira
Lanagro – MAPA, Recife



Prof^a. Dr^a. Miriam Nogueira Teixeira
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE



Prof^a Dr Pierre Castro Soares
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE



Dr. José Augusto Bastos Afonso da Silva
Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns – UFRPE

À base da minha família, Waldecy Seal e Doralice Seal, as quais estão presentes em todos os momentos da minha vida, mesmo eu me ausentado em alguns momentos especiais, porém sempre me incentivando e dando forças para seguir nesta grande jornada.

Ao meu irmão Anderson, pelo carinho e apoio, apesar da distância.

À Tia Elza que é um exemplo de força e garra.

A todos os meus tios, primos e parentes mais distantes que sempre me incentivaram a seguir nesta longa caminhada.

À Rogério, que além de ser marido, é um profissional exemplar que conduziu este experimento de forma a proporcionar momentos de alegria e tornando as madrugadas em claro, esperando as ovelhas parirem, em uma rotina prazerosa e de muito aprendizado. Foi muito bom dividir com você as tarefas diárias durante esses anos. Muito OBRIGADA!

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo e de todos, agradeço a Deus por sempre me proteger e guiar, às vezes por “caminhos tortos”, me dando sempre saúde, paz, alegria e força para continuar a seguir em frente e alcançar os meus objetivos.

À toda a minha família, pelo apoio e dedicação dispensados em todos os momentos da minha vida.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio financeiro e concessão da Bolsa de Pós-Graduação (PBPG).

À Dra. Carla, orientadora, pela dedicação, paciência, ensinamentos não só do trabalho, como também da vida, além dos inúmeros finais de semana dispensados para que o trabalho fluísse da melhor forma possível.

Ao Dr. José Augusto, pela oportunidade, desde a época do mestrado, pela confiança, ensinamentos e principalmente, dedicação.

Ao Professor José Jurandir Fagliari, Paulo César Silva e demais técnicos do laboratório, pelos ensinamentos durante a minha estadia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de Jaboticabal.

Ao Dr. Nivaldo e Dra. Isabel pela amizade, presteza e carinho durante toda a minha permanência, desde a época dos estágios, na Clínica de Bovinos.

À Aerlem, Mayra, Adalcides e Eldinê pelo companherismo e ensinamentos compartilhados durante este período.

Ao Prof. Dr. Pierre Castro Soares, pelas sugestões durante a realização da estatística dos trabalhos e pelas considerações dadas no exame de qualificação.

A todos os ex-residentes e “novos técnicos” da Clínica de Bovinos/ UFRPE, Campus Garanhuns, em especial a Alexandre, Janaína, Kalina, Eduardo Guaraná, e Rafael, pela amizade, aprendizado e apoio oferecidos no decorrer do curso.

À Dona Selma pela amizade, apoio, descontração e, principalmente aos lanchinhos oferecidos durante todo o período do trabalho.

À Dona Vânia pelo carinho, amizade e por ter cuidado de mim desde a época dos estágios realizados há alguns anos.

Aos amigos pós-graduandos pela colaboração, amizade e ensinamentos compartilhados.

A todas as pessoas que fazem e já fizeram parte do quadro de funcionários da Clínica de Bovinos de Garanhuns, Jeane, Luiza, Rose (*in memoriam*), Ciane, Mano pela presteza, paciência e colaboração.

Aos professores e funcionários da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Campus Dois Irmãos pela amizade e por terem contribuído para a realização deste trabalho.

Aos professores e funcionários da Unidade Especializada em Ciências Agrárias/Escola Agrícola de Jundiá da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em especial ao Prof. Júlio César de Andrade Neto, pelo apoio e incentivo para a conclusão do curso de doutorado.

Aos animais, pois sem eles seria impossível a realização deste trabalho.

RESUMO

Estudo hematológico e proteinograma sanguíneo e do colostro de ovelhas suplementadas com propileno glicol e com cobalto associado à vitamina B₁₂ e de suas respectivas crias

Este trabalho objetivou avaliar a influência da administração de propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ sobre o hemograma e proteinograma sanguíneo e do colostro de ovelhas da raça Santa Inês no período de transição e de suas respectivas crias. O estudo foi realizado no aprisco de experimentação para pequenos ruminantes da Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, utilizando 18 ovelhas prenhes e suas respectivas crias (n=23). As ovelhas, após exame clínico, foram distribuídas aleatoriamente aos 30 dias antes do parto em três grupos experimentais, Grupo 1 (G1/n=6), suplementado com propileno glicol (30mL por via oral, diariamente), Grupo 2 (G2/n=6) suplementado com cobalto (1mg de cloreto de cobalto a 1% por via oral, diariamente) e vitamina B₁₂ (2mg via intramuscular semanalmente) e o Grupo 3 (G3/n=6), grupo controle. A suplementação das ovelhas foi realizada dos 30 dias antes da data prevista para o parto até o momento do parto. Foram estabelecidos para a realização do hemograma e do perfil eletroforético do soro sanguíneo das ovelhas oito momentos experimentais, 30 dias antes do parto, uma semana antes do parto, momento do parto, 24hPP, 72hPP, 05dsPP, 15dsPP e 30dsPP e para a avaliação do proteinograma do colostro foi estabelecido um único momento experimental, logo após o parto. Para os borregos, estabeleceu-se 11 momentos experimentais, antes da ingestão do colostro (M0h), 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 7ds, 15ds, 30ds, 60ds e 90 dias de vida, exceto para as variáveis do hemograma em que foram suprimidos os momentos 6h e 12h. Nas ovelhas, a suplementação com cobalto associado à vitamina B₁₂ resultou na elevação das variáveis eritrocitárias no período de transição, assim como a administração de ambos os suplementos em maiores concentrações séricas de imunoglobulina G. Dentre as proteínas de fase aguda, a α 1-glicoproteína ácida foi a mais sensível dentre as demais identificadas no soro sanguíneo se elevando como consequência do parto. A administração dos suplementos não influenciou na concentração das oito proteínas identificadas no colostro (IgA, lactoferrina, albumina, IgG de cadeia pesada (IgGCP), β -caseína, IgG de cadeia leve (IgGCL), β -lactoglobulina and α -lactoalbumina) pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida. Na resposta hematológica dos cordeiros constatou-se haver influência da administração de cobalto associado à

vitamina B₁₂ sobre a elevação dos parâmetros eritrocitários destas crias, bem como a inversão tardia da relação neutrófilo:linfócito. A administração dos suplementos não influenciou a transferência da imunidade passiva considerada de moderada a boa nestes animais, assim como a dinâmica do proteinograma, sendo este influenciado pelo fator etário, particularmente pela elevação das proteínas ceruloplasmina, α 1-glicoproteína ácida, α 1-antitripsina e transferrina nas primeiras duas semanas de vida.

Palavras-chave: colostro, cordeiros, eletroforese em gel de poliacrilamida, imunoglobulinas, hemograma, pequenos ruminantes, período de transição, proteína de fase aguda.

ABSTRACT

Hematological study, blood proteinogram and colostrum of ewes supplemented with propylene glycol and with cobalt associated with vitamin B₁₂ and their offspring

This work aimed to evaluate the influence of propylene glycol and cobalt associated with vitamin B₁₂ on the hemogram and blood proteinogram and colostrums of Santa Inês ewes in the period of transition and their offspring. The study was conducted in the Clínica de Bovinos experiment barn for small ruminants, Campus Garanhuns – UFRPE, using 18 pregnant ewes and their offspring (n=23). The ewes, after clinical examination, were divided randomly, 30 days before lambing, in three groups, Group 1 (G1/n=6), supplemented with propylene glycol (30mL oral way daily), Group 2 (G2/n=6) supplemented with cobalt (1mg cobalt chloride 1%, oral way daily) and vitamin B₁₂ (2mg intramuscular way weekly) and the Group 3 (G3/n=6) control group. Supplementation of ewes was carried out for 30 days before the expected delivery date until the time of lambing. It was established for hemogram and the electrophoretic profile of blood serum of ewes eight experimental moments, 30 days before lambing, a week before lambing (ante partum), at the time of lambing, 24hPP, 72hPP, 05dsPP, 15 dsPP and 30dsPP and to assess the proteinogram of colostrum a single experimental time was established soon after lambing. For the lambs, it was established 11 experimental moments, before suckle colostrum (M0h), 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 7ds, 15ds, 30ds, 60ds and 90ds of life, except for the variables of the hemogram where no collection was made 6h and 12h of life. In sheep, supplementation with cobalt associated with vitamin B₁₂ resulted in the elevation of the erythrocyte variables in the transition period, as well as the administration of both supplements in higher serum concentrations of immunoglobulin G. Among the acute phase proteins, the α 1-acid glycoprotein was the most sensitive among the others identified in blood serum rising as a result of lambing. The administration of the supplements did not influence the concentration of the eight proteins identified in colostrum (IgA, lactoferrin, albumin, IgG heavy chain (IgGCP), β -casein, IgG light chain (IgGCL), β -lactoglobulin and α -lactalbumin) by electrophoresis in polyacrylamide gel. In the hematological response it was found influence of cobalt administration associated with vitamin B₁₂ in late pregnancy on the increase in erythrocyte parameters of lambs, and the belated reversal of the neutrophil ratio: lymphocyte. The administration of the supplements did not affect the transfer of passive immunity considered moderate to good for the lambs, as

well as the dynamics of the proteinogram, where the latter was influenced by age factor, particularly by higher protein ceruloplasmin, α 1 - acid glycoprotein , α 1 - antitrypsin and transferrin in the first two weeks of life.

Key-words: Acute phase protein, colostrum, hemogram, immunoglobulins, lambs, SDS-PAGE, small ruminants, transition period.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO III

| | | |
|------------|--|-----|
| FIGURA 01- | Valores médios do volume globular (%) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 108 |
| FIGURA 02- | Valores médios do volume corpuscular médio (fL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 108 |
| FIGURA 03- | Valores médios da contagem absoluta de leucócitos totais (/μL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 110 |
| FIGURA 04- | Valores médios da contagem absoluta de neutrófilos segmentados (/μL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 110 |
| FIGURA 05- | Valores médios da contagem absoluta de linfócitos (/μL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 110 |
| FIGURA 06- | Valores médios da contagem absoluta de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 113 |
| FIGURA 07- | Valores médios da concentração da proteína total (g/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 113 |
| FIGURA 08- | Valores médios da concentração da albumina (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 113 |
| FIGURA 09- | Valores médios da concentração da transferrina (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 114 |
| FIGURA 10- | Valores médios da concentração da proteína de PM 23.000 Da (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 114 |
| FIGURA 11- | Valores médios da concentração da imunoglobulina G (IgG total) (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno | 116 |

| | | |
|------------|--|-----|
| | glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | |
| FIGURA 12- | Valores médios da concentração da imunoglobulina A (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 116 |
| FIGURA 13- | Valores médios da concentração da haptoglobina (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 118 |
| FIGURA 14- | Valores médios da concentração da ceruloplasmina (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 118 |
| FIGURA 15- | Valores médios da concentração da α 1-glicoproteína ácida (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 119 |
| FIGURA 16- | Valores médios da concentração da α 1-antitripsina (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2)..... | 119 |

LISTA DE QUADROS

ARTIGO II

- QUADRO 01: Medidas de tendência central das proteínas identificadas no colostro de ovelhas submetidas à administração de propileno glicol, cobalto associado à vitamina B₁₂ e o grupo controle no final da gestação..... 94
- QUADRO 02: Matriz de correlação de Pearson (*r*) e nível de significância (*p*) entre pares das proteínas identificadas no colostro de ovelhas..... 95

ARTIGO III

- QUADRO 01: Nível de significância ($P > F$) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao perfil hematológico dos cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação..... 106
- QUADRO 02: Nível de significância ($P > F$) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao proteinograma do soro sanguíneo dos cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação... 106
- QUADRO 03: Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) do volume globular (%), da contagem de hemácias ($\times 10^9/\mu\text{L}$) e da concentração de hemoglobina (g/dL) e volume corpuscular médio (fL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação..... 107
- QUADRO 04: Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem total de leucócitos ($/\mu\text{L}$), da contagem absoluta de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$) e da contagem absoluta de linfócitos ($/\mu\text{L}$) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação..... 109
- QUADRO 05: Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem absoluta dos monócitos ($/\mu\text{L}$), eosinófilos ($/\mu\text{L}$) e da concentração do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de borregos cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação 111
- QUADRO 06: Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas da proteína total (g/dL), albumina

| | | |
|------------|--|-----|
| | (mg/dL), transferrina (mg/dL) e PM 23.000Da (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) no final da gestação ... | 112 |
| QUADRO 07: | Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das imunoglobulinas (IgG total, IgGCP, IgGCL e IgA) (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) no final da gestação | 115 |
| QUADRO 08: | Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das proteínas de fase aguda positiva haptoglobina (mg/dL), ceruloplasmina (mg/dL), α 1-glicoproteína ácida (mg/dL) e α 1-antitripsina (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) no final da gestação | 117 |
| QUADRO 09: | Correlação de Pearson (<i>r</i>) e nível de significância (<i>p</i>) entre pares de marcadores do proteinograma sérico dos cordeiros, cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) e controle (G3). | 120 |

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

| | | |
|------------|---|----|
| TABELA 01: | Nível de significância ($Pr>F$) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao perfil hematológico das ovelhas suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação..... | 74 |
| TABELA 02: | Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) do volume globular (%), da contagem de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) e da concentração de hemoglobina (g/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) observadas durante o período de transição..... | 75 |
| TABELA 03: | Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem total de leucócitos ($/\mu\text{L}$), da contagem absoluta de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$) e da contagem absoluta de linfócitos ($/\mu\text{L}$) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) observadas durante o período de transição..... | 76 |
| TABELA 04: | Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem absoluta de monócitos ($/\mu\text{L}$) e eosinófilos ($/\mu\text{L}$) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) observadas durante o período de transição..... | 77 |
| TABELA 05: | Nível de significância ($Pr>F$) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao proteinograma do soro sanguíneo das ovelhas suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação. | 78 |
| TABELA 06: | Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas da proteína total (g/dL), albumina (mg/dL), transferrina (mg/dL) e PM 23.000Da (mg/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) observadas durante o período de transição..... | 79 |
| TABELA 07: | Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das imunoglobulinas (IgG total, IgGCP, IgGCL e IgA) (mg/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B ₁₂ (G2) observadas durante o período de transição..... | 81 |

TABELA 08: Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das proteínas de fase aguda positiva haptoglobina (mg/dL), ceruloplasmina (mg/dL), α 1 glicoproteína ácida (mg/dL) e α 1-antitripsina (mg/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) observadas durante o período de transição.....

SUMÁRIO

| | Pág |
|--|------------|
| 1 – INTRODUÇÃO | 19 |
| 2 – OBJETIVOS | 21 |
| 2.1 – Objetivo geral | 21 |
| 2.2 – Objetivos específicos | 21 |
| 3 – REVISÃO DE LITERATURA | 22 |
| 3.1 – Ovinocultura no cenário sócio-econômico nacional..... | 22 |
| 3.2 – Período de transição | 22 |
| 3.3 – Avaliação hematológica | 26 |
| 3.4 – Proteinograma | 31 |
| 3.4.1 – Eletroforese em gel de poliacrilamida | 33 |
| 3.4.2 – Proteinograma do soro sanguíneo | 34 |
| 3.4.2.1 – Proteína Total | 34 |
| 3.4.2.2 – Albumina..... | 36 |
| 3.4.2.3 – Transferrina..... | 37 |
| 3.4.2.4 – Imunoglobulinas | 38 |
| a) Imunoglobulina A (IgA)..... | 38 |
| b) Imunoglobulina G (IgG)..... | 38 |
| 3.4.2.5 – Haptoglobina | 39 |
| 3.4.2.6 – Ceruloplasmina | 41 |
| 3.4.2.7 – α 1- glicoproteína ácida | 42 |
| 3.4.2.8 – α 1- antitripsina | 44 |
| 3.4.3. – Proteinograma do colostro | 44 |
| 4 – REFERÊNCIAS | 49 |
| 5 – APRESENTAÇÃO DA PROPOSTA | 69 |
| 6 – ARTIGOS CIENTÍFICOS | 70 |
| 6.1 Artigo I – Influência da suplementação com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B ₁₂ nos parâmetros hematológicos e no proteinograma de ovelhas Santa Inês no período de transição | 70 |
| 6.2 Artigo II – Perfil eletroforético do colostro de ovelhas suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B ₁₂ no final da gestação..... | 88 |
| 6.3 Artigo III – Proteinograma do soro sanguíneo e hemograma de cordeiros | |

| | |
|---|-----|
| cujas mães foram suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B ₁₂ no final da gestação..... | 96 |
| 7- ANEXOS | 121 |

1- INTRODUÇÃO

A ovinocultura está presente em praticamente todos os continentes, com a ampla difusão da espécie se devendo, principalmente, a seu poder de adaptação a diferentes climas, relevos e vegetações. No Nordeste brasileiro, houve um crescimento significativo neste setor, onde os rebanhos começaram a ser explorados economicamente com a introdução de raças especializadas, melhoramento genético e técnicas de manejo que propiciaram a elevação da produtividade (VIANA, 2008).

Diante desta perspectiva econômica, a região nordeste concentra 57% do rebanho ovino brasileiro, cerca de 9,57 milhões de cabeças, dos quais o Estado de Pernambuco detém 1,49 milhões de ovinos (IBGE, 2009). Neste cenário, dentre as raças criadas na região, a Santa Inês se destaca pelas suas qualidades zootécnicas, como a rusticidade, capacidade de adaptação às condições adversas, fecundidade e boa produção leiteira (SANTOS, 1986; OLIVEIRA, 2000).

Apesar do reconhecido potencial ovino para a produção de carne na região e a crescente necessidade em atender a demanda exigida pelo mercado, ainda existem alguns fatores que são considerados limitantes na produção de boas matrizes. Dentre estes fatores destaca-se a sanidade, o manejo e a nutrição, visto que tanto os excessos quanto a sua carência, constituem um entrave ao desenvolvimento desta atividade (AFONSO, 2006).

As exigências produtivas impostas nos sistemas de criação mediante o melhoramento genético e o manejo intensivo, têm aumentado o risco e a incidência de desequilíbrios nutricionais e distúrbios metabólicos, podendo tanto acarretar a perda de matrizes de alto valor genético, como comprometer o potencial de produtividade de seus cordeiros, inclusive com a ocorrência de óbitos, representando uma das principais causas de perdas na ovinocultura (OLIVEIRA, 2000).

O período conhecido como de transição, que compreende as três semanas que precedem o parto e as três seguintes, é marcado por mudanças expressivas nas ovelhas, acarretando uma série de alterações hormonais e consequentemente metabólicas, em que o organismo da fêmea se prepara para o parto e o início da lactação. Tais alterações podem desencadear diferentes transtornos de ordem metabólica, advindo de um maior aporte energético para atender às demandas elevadas de nutrientes requeridas na fase final do crescimento fetal, no desenvolvimento mamário, na formação do colostro e na produção de leite (GRUMMER, 1995; EL SHERIF e ASSAD, 2001).

Para satisfazer às exigências energéticas e proteicas no período em que há redução no consumo de alimento, principalmente pelo aumentado volume do útero gestante, ocorre a mobilização das reservas corporais. Esta mobilização vai acarretar alterações, traduzidas em

transtornos endócrinos e conseqüentemente metabólicos, gerando impacto econômico negativo na criação (GRUMMER, 1995; RUEG e MILTON, 1995).

A administração de suplementos gliconeogênicos no final da gestação de ovelhas é prática frequente na ovinocultura, visando prevenir os distúrbios metabólicos comumente desencadeados neste período. Dentre os precursores da glicose, destaca-se o propileno glicol, responsável por aumentar os níveis de glicose e insulina, como também deprimir a liberação de ácidos graxos não esterificados (RINGS, 1985; CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ et al., 2009; CHIOFALO et al., 2009). Vacas, ovelhas e cabras recebendo este componente apresentaram proporção significativamente mais elevada de propionato, indicando metabolização substancial deste precursor de glicose intraruminal (NIELSEN e INGVAARTSEN, 2004; CHIOFALO et al., 2009), sendo atribuído a este composto a melhor performance produtiva de cordeiros ao nascimento, cujas mães foram suplementadas no último mês de gestação (CHIOFALO et al., 2005). O cobalto é empregado na alimentação de fêmeas gestantes por ser importante microelemento utilizado pela microflora do rúmen para a síntese de vitamina B₁₂, que por sua vez é coenzima essencial no metabolismo do ácido propiônico, na gliconeogênese, na geração de energia e na formação da hemácia. Ambos os suplementos, são imprescindíveis para o desempenho produtivo do rebanho, interferindo no processo de mobilização das reservas energéticas e de gordura, neste período crítico para o animal, que precede o parto e início da lactação (DUNCAN et al., 1981; BORGES, 2003; AFONSO, 2006).

A repercussão sistêmica, como as conseqüências hematológicas e sobre o proteinograma resultante da administração destes suplementos no final da gestação e mesmo sob o ponto de vista fisiológico ainda é pouco documentado na espécie ovina, quando comparado à bovina. Diante do exposto, este estudo teve por objetivo avaliar durante o período de transição as alterações hematológicas e o perfil eletroforético das proteínas presentes no soro sanguíneo e no colostro de ovelhas suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ e de suas respectivas crias na fase inicial da vida produtiva.

2- OBJETIVOS

2.1) *Geral*

- Avaliar a influência da administração de propileno glicol e de cobalto associado à vitamina B₁₂ sobre os achados hematológicos e do proteinograma sanguíneo e do colostro de ovelhas da raça Santa Inês no período de transição e de suas respectivas crias após o nascimento até 90 dias de idade.

2.2) *Específicos*

- Avaliar os achados hematológicos por meio do hemograma e da concentração do fibrinogênio plasmático das ovelhas (mãe) no período de transição e nas suas respectivas crias do nascimento aos 90 dias de idade.

- Avaliar a dinâmica do proteinograma identificando e quantificando as proteínas separadas no traçado eletroforético do soro sanguíneo das ovelhas durante o período de transição.

- Avaliar a dinâmica do proteinograma dos cordeiros do nascimento aos 90 dias de idade, identificando e quantificando as proteínas do soro sanguíneo separadas no traçado eletroforético.

- Avaliar o perfil eletroforético identificando e quantificando as proteínas presentes no colostro das ovelhas.

3 – REVISÃO DE LITERATURA

3.1 - OVINOCULTURA NO CENÁRIO SÓCIO-ECONÔMICO NACIONAL

A participação da produção animal sobre o produto interno bruto agrícola dos países em desenvolvimento é estimada atualmente em cerca de 30%, com a projeção de incremento para 40% até 2030 (FAO, 2010). No Brasil, apesar da carne ovina ainda ocupar uma parcela muito pequena no ranking do consumo de carnes, na última década, a atividade vem ganhando expressividade, tendo como principal atrativo, o consumo de cordeiro (GRANADOS et al., 2006).

Dentre os ovinos criados, a raça deslanada Santa Inês, já no início dos anos 90, apresentava grande crescimento populacional no Nordeste e começava a despertar interesse dos criadores dos Estados do Sudeste e Centro-Oeste (MORAIS, 2000). O processo de crescimento desta raça foi considerável quando comparado às nativas, possuindo qualidades como ser de grande porte, produzir boa carcaça, contendo pele forte e resistente, além de ser adaptada às diferentes condições climáticas. As ovelhas se destacam pela habilidade materna e capacidade leiteira, observando-se frequentemente partos gemelares no rebanho (MORAIS 2000; CARDOSO et al., 2010).

Apesar das qualidades apresentadas pela raça Santa Inês, ainda existe a necessidade de aumentar o rebanho ovino e seguindo as projeções citadas, o Banco Mundial estimou que será necessário aumentar a produção de carne na ordem de 80% (FAO, 2010). Para que isso aconteça, o conhecimento das alterações fisiológicas que ocorrem nos ruminantes, mesmo não sendo constatadas desordens metabólicas no período de transição, são de grande importância devido ao impacto da redução do consumo alimentar, principalmente em fêmeas que apresentem gestações duplas ou triplas, acarretando prejuízo econômico (RODRIGUES et al., 2007).

3.2 – PERÍODO DE TRANSIÇÃO

O período de transição, o qual abrange três semanas antes até três semanas após o parto, é marcado por mudanças no estatus endócrino para auxiliar o parto e a lactogênese. Estas variações, as quais são muito mais intensas nesta fase, influenciam o metabolismo tecidual e a utilização de nutrientes (GRUMMER, 1995).

No terço final de gestação, quando ocorre cerca de 70% do crescimento fetal, as ovelhas necessitam de maior aporte energético para atender às demandas elevadas de nutrientes para o crescimento fetal, desenvolvimento mamário, formação do colostro e alta produção de leite. A alimentação precária durante este período, reduz o desenvolvimento do úbere, o acúmulo de colostro e a lactogênese é atrasada, ou seja, ocorre diminuição no início da formação láctea. Para a

sua manutenção, uma ovelha vazia necessita de cerca de 100g/dia de glicose. No final da gestação, cada feto necessita de 30 a 40g/dia de glicose. Assim, esse período de privação alimentar, ou até mesmo o estresse em decorrência de alteração no manejo, pode levar a um balanço energético negativo grave (MELLOR et al., 1987; RUSSEL, 1991; CHARISMIADOU et al., 2000; MONTEIRO e OTTO DE SÁ, 2004; AFONSO, 2006).

A nutrição inadequada no terço final da gestação resultará em nascimento de cordeiros pequenos, aumento da susceptibilidade a doenças infecciosas, mortalidade pós-natal, diminuição do instinto materno e diminuição da produção de leite. (SUSIN, 1996; MENDES et al., 2010).

No entanto, ainda que sejam fornecidos alimentos em qualidade e quantidade adequados, ocorre uma diminuição do seu consumo, durante o período de transição, em decorrência do volume aumentado do útero gestante nesta fase. Em virtude disso, a mobilização das reservas corporais, que resulta em redução do escore da condição corporal (ECC) e do peso dos animais, é necessária para satisfazer as exigências de energia e proteína. Essa mobilização vai levar a alterações fisiológicas, traduzidas em transtornos endócrinos e metabólicos, podendo ser avaliadas por meio de mensurações das concentrações plasmáticas de metabólitos sanguíneos, como verificado pela correlação altamente positiva entre as reservas de gordura e os níveis plasmáticos de ácidos graxos não-esterificados (AGNES) (GRUMMER, 1995; RUEG e MILTON, 1995; RODRIGUES et al., 2006).

A correlação positiva entre as reservas de gordura e os níveis plasmáticos de ácidos graxos não-esterificados (AGNES) pode ser exemplificada através de estudo realizado por Chiofalo et al. (2005), em que suplementaram ovelhas no período periparto, com propileno glicol, e observaram que os animais do grupo controle tenderam a apresentar concentrações significativamente maiores de AGNES no plasma, com valores mais elevados no período pré-parto em detrimento ao pós-parto, atribuindo, então, este resultado à maior mobilização de tecido adiposo antes do parto, ao contrário do observado no grupo suplementado, onde houve um comportamento regular do AGNES plasmático.

Os ácidos graxos não-esterificados (AGNES) podem ser utilizados no ciclo do ácido cítrico produzindo energia, mas não formam glicose. A glicose sanguínea da ovelha é derivada principalmente a partir do ácido propiônico, um dos três principais produtos finais da fermentação do amido e celulose produzidos no rúmen. Alguns valores da taxa de glicose produzida são obtidos dos aminoácidos pela gliconeogênese, oriundo da digestão da proteína na dieta. Se o animal diminui a ingestão de alimentos vai diminuir a produção de ácido propiônico, e conseqüentemente a formação de glicose, com menor formação de oxaloacetato, substância necessária para que os ácidos graxos não-esterificados sejam aproveitados no ciclo do ácido cítrico para a produção de

energia. O seu acúmulo causa aumento dos corpos cetônicos ou são estocados na forma de lipopoliproteínas (NAAVARRE e PUGH, 2002, AFONSO, 2006).

O distúrbio metabólico que causa o aumento de corpos cetônicos é a toxemia da prenhez, onde o ácido propiônico e outros precursores glicogênicos derivados da dieta e de reservas do corpo são incapazes de manter o requerimento glicêmico. Há a hipoglicemia, e com isso o animal utiliza uma via de catabolismo em que ocorre a hidrólise de gordura, convertendo o glicerol em glicose, e este processo oxidativo dos ácidos graxos gera a formação de corpos cetônicos – acetona, ácidos acetoacetato e β -hidroxibutirato – que podem acumular e provocar hipercetonemia (BLOM et al., 1976; AFONSO, 2006; MAVROGIANNI e BROZOS, 2008).

A utilização de cobalto e vitaminas do complexo B, na alimentação de pequenos ruminantes e vacas leiteiras, têm ajudado a obter um melhor desempenho produtivo do rebanho, interferindo no processo de mobilização de reservas energéticas e de gordura. O cobalto é um importante microelemento usado pela microflora do rúmen para a síntese de vitamina B₁₂, que é absorvida no intestino delgado e estocada no fígado. A vitamina B₁₂ é uma coenzima essencial no metabolismo do ácido propiônico (maior precursor na formação de energia nos ruminantes), na gliconeogênese e na geração de energia (DUNCAN et al., 1981; BORGES, 2003; AFONSO, 2006).

Com o propósito de determinar os efeitos de múltiplas injeções de uma combinação de 10% de butafosfan e 0,005% de cianocobalamina (Catosal®, Bayer Animal Health, Leverkusen, Germany) entre a primeira e segunda semanas antes do parto sobre o metabolismo e saúde das vacas de leite, FÜRLL et al. (2010) verificaram que houve um aumento na glicose após o parto, diminuição da mobilização de gordura periférica e diminuição da formação de corpos cetônicos. Segundo esses autores, a dosagem diária do Catosal (butafosfan, 10mg/kg de peso corporal e cianocobalamina, 5 μ g/kg de peso corporal) foi aproximadamente 11 vezes superior ao limite da dose administrada para bovinos nos Estados Unidos que é de 0,91mg/kg de peso corporal de butafosfan e 0,45 μ g/kg de peso corporal de cianocobalamina.

Catosal é uma mistura comercialmente avaliável de cianocobalamina (50 μ g de cianocobalamina/mL) e um componente contendo fósforo (100mg de butafosfan/mL), os quais são fornecidos com o intuito de melhorar o metabolismo energético dos bovinos, uma vez que a maioria do requerimento diário da cianocobalamina é fornecida pela atividade metabólica das bactérias ruminais que produzem uma média de 73mg por dia nas vacas Holandesas lactantes (FÜRLL et al., 2010).

Após o trabalho de FÜRLL et al. (2010), Pereira et al. (2013) determinaram os efeitos da injeção de butafosfan e cianocobalamina sobre o consumo de matéria seca e parâmetros metabólicos do pós-parto inicial de ovelhas mestiças de Texel. Para esse estudo foi administrado 1.000mg de butafosfan e 0,5mg de cianocobalamina (Catosal® B₁₂), em 03 doses e a cada dois dias

após o nascimento do borrego. Foi constatada diminuição nas concentrações séricas de AGNES e acetona e aumento da concentração sanguínea de fósforo, glicose e no consumo de matéria seca, indicando uma melhora no estatus energético dos animais.

Outras substâncias fornecidas com o propósito de aumentar os níveis de glicose sanguínea são o propionato de sódio, glicerol e o propileno glicol. Dentre estes precursores citados, o propileno glicol é o mais utilizado pelo fato de possuir a função adicional de deprimir a liberação de ácidos graxos não-esterificados (RINGS, 1985), assim como possuir efeitos positivos sobre a produção de leite nas vacas (McART et al. 2011).

Propileno glicol tem sido usado profilaticamente ou auxiliado o tratamento de cetose clínica ou subclínica. Geralmente, este suplemento aumenta as concentrações de glicose e insulina, enquanto que o AGNES e o beta-hidroxibutirato (BHB) diminuem. Entretanto, a magnitude destas respostas fisiológicas varia entre testes (GRUMMER et al., 1994; PICKETT et al., 2003) e alguns estudos não encontram efeitos estatisticamente significativos, como os de Fonseca et al. (2004); Adamski et al. (2011); Chibisa et al. (2008) e Chung et al. (2009).

Ao administrar 300mL/dia de propileno glicol, pela via oral, a vacas aos 35 e 21 dias antes do parto, Juchem et al. (2004) verificaram concentrações aumentadas de glicose e insulina, porém não afetaram a produção de leite durante as primeiras nove semanas de lactação.

Realizando estudo utilizando propileno glicol na dosagem de 500g/d (contendo 55%, o equivalente a 275g de propileno glicol) por vaca no periparto, Moallem et al. (2007) constataram aumento na concentração de glicose no pré e pós-parto. No entanto, Chung et al. (2009) ao fornecerem 250g/d, correspondendo a 162,5g, de propileno glicol não verificaram aumento das concentrações de glicose plasmática.

Doses diárias de 1 litro de propileno glicol foram dadas, pela via oral, dez dias antes do parto até o parto de vacas, por Studer et al. (1993) e constataram aumento na glicose plasmática, com o seu pico em 75 minutos, além de uma elevação da insulina plasmática após 15 minutos da administração. Apesar da dose elevada de propileno glicol, a produção e nem a composição do leite foram afetados pelo fornecimento pré-parto, a qual foi justificada pela moderada condição corporal dos animais e ao curto tempo do tratamento.

Ao contrário do estudo realizado por Studer et al. (1993), Lien et al. (2010) forneceram 500mL de propileno glicol por um período mais elevado, a partir de sete dias antes do parto até 30 dias após, e verificaram que a administração deste suplemento durante o período de transição das vacas de leite, pode suprir rapidamente a energia, resultando no reduzido catabolismo do tecido corporal e produção de leite aumentada.

Fatores que podem explicar os resultados diferenciados entre testes podem estar relacionados com o período de amostragem sanguínea, em relação à atribuição do propileno glicol,

ao método utilizado, da dose administrada e ao estado fisiológico do animal (NIELSEN e INGVARTSEN, 2004).

Em relação ao estado fisiológico do animal, vários parâmetros hematológicos podem se apresentar alterados durante o período de transição, em diferentes espécies, e fazem parte da adaptação da fêmea ao período reprodutivo em que se encontra (VERDURICO, 2010).

3.3- AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

A hematologia clínica é uma importante área de estudo para a indicação do estado de saúde dos animais, sendo este, um dos métodos de avaliação de diagnóstico, prognóstico e acompanhamento dos tratamentos de diversas enfermidades. Muitos parâmetros podem ser acessados através do sangue, tais como estatus imune e hormonal, e níveis metabólicos (JAIN, 1993; SOCH et al., 2011).

No final da gestação, o número de eritrócitos aumenta em consequência do efeito eritropoiético da somatotropina coriônica placentária, da progesterona e, talvez, da prolactina. O volume sanguíneo materno também aumenta, como resposta à circulação útero-placentária e ao desenvolvimento do feto, mantendo adequada a oxigenação dos tecidos e pressões sanguínea, materna e fetal (VERDURICO, 2010).

Em 2000, Chalhoub et al. realizaram um experimento, em São Paulo, com o objetivo de comparar os perfis dos constituintes sanguíneos de ovelhas submetidas à cesariana eletiva com as de parto normal. As amostras de sangue desses animais foram obtidas em cinco momentos, com início antes do parto até sete dias pós-parto, não sendo observadas, ao final do referido trabalho, alterações significativas nos valores do eritrograma.

Ao avaliar os constituintes do sangue de ovelhas da raça Merino durante a gestação e o puerpério foi constatado por Krajnicakova et al. (1997) que a concentração de hemoglobina diminuiu de forma significativa, do primeiro dia pós-parto até o 25º. Entretanto, Baumgartner e Pertharner (1994), avaliando a influência do ciclo reprodutivo não encontraram variações significantes em ovinos da raça Karakul.

Realizando um estudo sobre os requerimentos de cobalto e vitamina B₁₂ em ovelhas, as quais foram distribuídas em grupos e submetidas à administração de diferentes quantidades desses suplementos, Marston (1970), verificou que a concentração média de hemoglobina destes grupos não diferiu significativamente até a 34ª semana, após esse tempo, entretanto, houve considerável variabilidade entre animais dentro do grupo e diminuição relativamente rápida nas concentrações de hemoglobina de alguns indivíduos dos grupos que foram tratados com quantidades mais baixas como 12,5 µg e 25µg de vitamina B₁₂ e naquele grupo que não foi tratado.

As alterações hematológicas relacionadas à lactação podem variar entre rebanhos e os baixos parâmetros eritrocitários durante este período podem estar relacionados com o nível de produção leiteira, com a nutrição do animal e com o aumento do volume plasmático. No geral, quanto maior é a produção de leite, menores são os valores dos parâmetros eritrocitários (VERDURICO, 2010).

Abou-Zeina et al. (2008) verificaram diminuição significativa nos valores das hemácias, volume globular, hemoglobina, VCM (volume corpuscular médio) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) no grupo de cordeiros deficientes em cobalto, sendo revelada discreta anemia microcítica e hipocrômica. Outros parâmetros significativamente diminuídos foram proteína total sérica, albumina e globulina.

Com o intuito de estimar os requerimentos de cobalto de bovinos em crescimento, Stangl et al. (2000), verificaram que a concentração de hemoglobina e hematócrito tenderam a se elevar de forma discreta, com uma maior quantidade de cobalto da dieta. Foram verificados, neste experimento, que as concentrações de hemoglobina e hematócrito estavam diminuídas na 40ª semana somente nos animais submetidos às dietas contendo <math><100\mu\text{g}</math> de cobalto/kg de matéria seca. No entanto, as contagens de células vermelhas e o volume corpuscular médio (VCM) não sofreram alterações, em decorrência dos níveis dietéticos de cobalto usados neste estudo.

Oscilações dos índices ao longo da idade foram verificados por Brun-Hansen et al. (2006), com variáveis hematológicas mais elevadas nas primeiras cinco a oito semanas de vida para após se estabilizarem. Sua justificativa para tal resultado foi relacionado ao período de transição de um ambiente fetal para neonatal, o qual envolve amplas variações fisiológicas. Além disso, nos primeiros meses de vida, os animais passam por uma fase ativa de crescimento e um período crítico de maturação imunológica quando se deparam com muitas substâncias e microorganismos pela primeira vez.

Ullrey et al. (1965) apresentaram minuciosa pesquisa avaliando a influência dos fatores etários sobre o quadro hematológico de ovinos e verificaram que os valores do número de hemácias, da concentração de hemoglobina e do volume globular, nos cordeiros, diminuíram do nascimento até a segunda semana de idade, sendo este fato atribuído ao inadequado suprimento de ferro necessário à formação da hemoglobina. Estes autores verificaram ainda que os valores da concentração de hemoglobina e do volume globular dos cordeiros ao nascer, foram maiores do que em qualquer outro período durante o primeiro ano de vida. A média do VCM foi maior ao nascimento e diminuiu até o quinto e terceiro mês de vida. Com o objetivo de avaliar a dinâmica do desenvolvimento etário sobre o eritrograma de ovinos, Upcott et al. (1971) utilizaram 32 cordeiros mestiços, desde o dia do nascimento até aproximadamente 40 dias de idade e verificaram que o número total de hemácias, o volume globular e a concentração de hemoglobina, diminuíram do nascimento até a terceira semana de vida, aumentando posteriormente até os 40 dias de vida, sendo

percebido o oposto nos valores do VCM e da HCM, os quais reduziram gradualmente durante este período. Com relação aos baixos valores de hemoglobina observados na terceira semana de vida ($10,2 \pm 0,45\text{g/dL}$) os autores afirmam não estarem associados a células hipocrômicas, mas à redução do volume corpuscular médio.

Jelinek et al. (1984) estabeleceram valores para os constituintes do hemograma de ovinos machos da raça Merino, cujas amostras foram colhidas, mensalmente, desde o primeiro até os 18 meses de vida, demonstrando que os valores das médias do número de hemácias e da concentração de hemoglobina aumentaram, gradualmente e de forma significativa, do grupo de animais com 30 dias até o grupo de ovinos com noventa dias de vida, respectivamente.

Ao avaliarem a influência do desenvolvimento etário de 106 cordeiros, desde o nascimento até os 18 meses de vida, da raça Altamurana, criados na região de Bari, na Itália, Pieragostine et al. (2000), verificaram que o número de hemácias diminuiu de forma significativa da primeira até a segunda semana de vida. Foi percebido também que esta mesma dinâmica foi observada para os valores do volume globular e da concentração de hemoglobina, no entanto, esta diminuição se estendeu até os sete meses de idade, refletindo-se sobre os valores do volume corpuscular médio e da hemoglobina corpuscular média.

Baranowski et al. (1999) observaram decréscimo na concentração de hemoglobina em 50 cordeiros, estando associado ao declínio da hemoglobina fetal, substituída pela síntese da hemoglobina adulta, entre a segunda e terceira semana de vida. Os autores ainda constataram que os valores das médias tanto do volume globular quanto da concentração da hemoglobina foram maiores nos animais provenientes de gestação simples.

Os leucócitos são divididos em granulócitos, também chamados de polimorfonucleares, que incluem neutrófilos, eosinófilos e basófilos, e células mononucleares, representadas pelos linfócitos e monócitos. Cada tipo celular, com exceção dos linfócitos, é produzido e maturado na medula óssea. Os linfócitos são únicos, se originando de uma célula pluripotencial da medula óssea e sofrendo maturação e proliferação em outros tecidos linfóides (JAIN, 1993; KANEKO et al. 1997; JONES e ALLISON, 2007; WEISS e WARDROP, 2010).

A contagem diferencial de leucócitos é mais importante que a contagem total, pois aumento ou diminuição de tipos celulares pode ocorrer simultaneamente, fazendo com que a contagem total permaneça inalterada (JONES e ALLISON, 2007). Além da contagem total, recomenda-se, para ruminantes, que a utilização da determinação do fibrinogênio plasmático esteja sempre associada à realização do leucograma e determinação de outras proteínas de fase aguda (CASTRO et al., 2000), isto se deve ao fato de que mudanças na contagem diferencial de leucócitos possam ser mediadas através da liberação endógena de epinefrina, glicocorticoides ou através de várias citocinas liberadas durante a inflamação (COLE et al., 1997).

Ao avaliar o número total de leucócitos de ovelhas da raça Santa Inês, durante a gestação, Bastos (2008) verificou um decréscimo gradual, porém ainda dentro dos valores de referência. No entanto, percebeu uma pequena elevação, nesta variável, no periparto. Nos linfócitos e neutrófilos foram verificadas semelhanças entre os valores do início da gestação até 21 dias, assim como no periparto.

Quanto aos neutrófilos, se observa que os valores apresentam-se maiores nos ruminantes jovens quando comparados aos linfócitos, entretanto, com o avançar da idade, os linfócitos tornam-se dominantes, apresentando uma proporção neutrófilo/linfócito de 1:2 nos animais adultos. (JONES e ALLISON, 2007).

Ao analisar os resultados do leucograma de cabritos após o nascimento, Silva (2005) observou valores de neutrófilos segmentados significativamente maior após a ingestão do colostro, juntamente com os basófilos. A contagem total de leucócitos elevou-se em função do aumento do número absoluto de neutrófilos segmentados e de linfócitos, não sendo observada maior contagem total de leucócitos ao nascimento, em decorrência do efeito de glicocorticoides liberados após o estresse do parto, como também foi verificado que o número de linfócitos foi maior do que os segmentados ao nascimento.

Os eosinófilos constituem normalmente 2% de todos os leucócitos e acredita-se que sejam responsáveis por uma significativa lesão tecidual, desempenhando importante papel na ampliação da resposta inflamatória (RINGLER, 1997).

Ao estudar os parâmetros hematológicos de ovelhas Lacaune, Brito (2004) verificou diminuição dos valores dos eosinófilos do início ($642,79 \pm 722,72/\mu\text{L}$) ao final da gestação ($365,21 \pm 348,59/\mu\text{L}$) continuando a decrescer dos sete aos 60 dias após o parto, enquanto que na espécie caprina, Birgel Júnior et al. (2005) ao avaliarem o leucograma desses animais constataram que o número absoluto de eosinófilos não sofreu influência da parição.

Jain (1993) relatou que, em alguns animais, o número de eosinófilos circulantes pode ser influenciado pela idade, e segundo Neto (2004), em um estudo sobre hemogramas de bovinos sadios da raça Curraleiro, verificou que o número de eosinófilos sofreu influência do fator etário, pois os valores obtidos aumentaram gradativa e significativamente com o evoluir da idade, apresentando um aumento a partir dos seis meses e atingindo os maiores valores na fase adulta, nos animais com mais de 36 meses de idade.

Em ruminantes normais, os basófilos estão presentes em pequeno número e frequentemente não são encontrados na contagem diferencial manual, como observado por Costa et al. (2000) em que pequenas variações do número absoluto de basófilos mostraram que estes fatores etários não exerceram influência significativa sobre essas células (JONES e ALLISON, 2007).

Brito (2004) e Birgel Júnior (2005) ao avaliarem os parâmetros leucocitários de ovelhas da raça Lacaune e cabras Saanem, respectivamente, constataram oscilações dos valores dos basófilos tanto durante a gestação quanto no puerpério. Já nos bubalinos, Verdurico (2010) verificou uma elevação desta variável do pré-parto ao pós-parto, enquanto que nos monócitos foi constatado maior valor no parto.

Costa et al. (2000) ao estudarem os fatores etários no leucograma de fêmeas zebuínas sadias da raça Nelore, verificaram a existência de pequenas variações nos índices absolutos de monócitos, com o valor máximo registrado em animais inclusos na faixa etária de 0 a três meses.

Os monócitos desempenham papel relevante na defesa contra os microrganismos intracelulares como fungos, vírus e algumas bactérias. São importantes também na inflamação porque contêm ou secretam diversas substâncias biologicamente ativas, além de serem responsáveis pela remoção e processamento das células senescentes e debrís e, pela filtração de bactérias e toxinas do sangue (MEYER et al., 1995).

O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda sintetizada pelo fígado, cuja concentração plasmática eleva-se sob a ação estimuladora das interleucinas 1 e 6 e do fator de necrose tumoral. Está envolvido na homeostase, fornecendo um substrato para a formação de fibrina e na reparação tecidual, provendo uma matriz para a migração de células inflamatórias relacionadas. É utilizado nos ruminantes como um confiável indicador da presença de inflamação, infecção bacteriana ou trauma cirúrgico, juntamente com a haptoglobina (ANDREWS et al., 1994; COLE et al., 1997; THOMAS, 2000)

Após a destruição tecidual ativa ter sido cessada, a concentração do fibrinogênio retorna ao seu limite normal, somente diversos dias após, levando posteriormente a uma elevação na gama globulina. Elevações nos níveis de globulina total são indicativos de inflamação crônica devido ao aumento na produção de grande quantidade de imunoglobulinas (COLE et al., 1997).

David et al. (2011) constataram valores médios elevados de fibrinogênio conforme a aproximação do parto de ovelhas da raça Santa Inês. Esta observação também foi feita por Eckersall et al. (1993), no período peri-parturiente, justificando se dever a uma resposta ao dano tecidual que pode ocorrer neste período de reparação.

Ao realizar um estudo sobre algumas proteínas de fase aguda, em borregos resultantes do cruzamento de Dorper com as raças Morada Nova, Rabo Largo e Santa Inês, Matos (2005) verificou que o fibrinogênio não apresentou diferenças significativas quanto às faixas etárias, do nascimento aos seis meses de idade. Neste trabalho, as médias variaram de 200 a 300mg/dL e apenas 5,4% dos animais estudados apresentaram valores acima do limite normal.

3.4 - PROTEINOGRAMA

As proteínas são macromoléculas formadas por cadeias de polipeptídios muito longas, contendo 100 a 2.000 aminoácidos unidos por ligações peptídicas. O papel central ocupado por elas é evidenciado pelo fato de que a informação genética é expressa como proteínas (LENHINGER et al., 1993). Suas funções no corpo são inúmeras. Elas formam a base da estrutura das células, órgãos e tecidos; mantêm a pressão colóide-osmótica; catalisam enzimas nas reações bioquímicas; participam do equilíbrio ácido-base; são reguladores de hormônios; coagulação do sangue e nas defesas do corpo (anticorpo); estão envolvidas na nutrição e no transporte da maioria dos constituintes do plasma. Contudo, a atividade biológica das proteínas e polipeptídeos para estas funções dependem de sua estrutura e da sequência primária de aminoácidos dos hormônios polipeptídeos para as fibras macromoleculares dos polímeros de fibrina que participam na formação do coágulo. O fígado é o principal órgão responsável pelo metabolismo das proteínas, seguido pelo sistema imune (KANEKO, 1989).

O peso molecular das proteínas pode variar de pouco mais que 10 quilodaltons (kD) para proteínas pequenas, a mais de 1.000kD para as que possuem cadeias polipeptídicas muito longas ou para aquelas com muitas subunidades. Os métodos para separar as proteínas aproveitam-se das propriedades exibidas pelas mesmas, como a carga elétrica, o tamanho e a solubilidade, os quais variam de uma proteína a outra. Além disso, muitas delas têm a capacidade de se ligarem a outras biomoléculas e podem ser separadas em função dessa propriedade de ligação (LENHINGER et al., 1993).

As proteínas de fase aguda são proteínas que aumentam (positivas) ou diminuem (negativas) no plasma como um resultado de injúria tecidual ou inflamação. As proteínas de fase aguda negativas são pré-albumina (54kD), albumina (66kD) que é a mais abundante no plasma e a transferrina (76kD). As de fase aguda positivas, são o fibrinogênio (340kD), haptoglobina (100kD), soro-amiloide A, proteína ligada a lipopolissacarídeo, α 1-glicoproteína ácida (44kD), ceruloplasmina (151kD), inibidor α 1-proteinase (antitripsina – 45kD), α 2-macroglobulina, proteína-C (62kD), proteína C-reativa (140kD), α 1-antiquimiotripsina, ferritina e proteínas complemento. Estas proteínas são produzidas pelos hepatócitos em resposta as citocinas pró-inflamatórias interleucina-1, interleucina-6 e fator de necrose tumoral resultante da injúria tecidual ou inflamatória (GRUYS et al., 1994; KANEKO et al., 1997; THOMAS, 2000).

As proteínas são sintetizadas sob controle genético, o que explica a grande variação entre diferentes espécies e indivíduos da mesma espécie, justificando as variações refletidas no padrão do perfil eletroforético das proteínas séricas normais em diferentes espécies. As proteínas séricas fracionadas eletroforéticamente podem ser classificadas em albumina, alfa-globulina, beta-globulina e gama-globulina (KANEKO, 1989).

As proteínas de fase aguda são consideradas componentes imunes inatos e não específicos envolvidos na restauração da homeostase e na limitação do crescimento microbiano antes dos animais desenvolverem imunidade adquirida para um agente invasor (MURATA et al., 2004). Fazem parte de um grupo de componentes do sangue, que varia em concentração, nos organismos submetidos a injúrias internas ou externas, como infecções, trauma cirúrgico, queimaduras, várias condições imunologicamente mediadas, câncer avançado, parto e estresse (GABAY e KUSHNER, 1999; MURATA et al., 2004). Dentre as alterações homeostáticas que são observadas durante a resposta de fase aguda, destaca-se a febre, síntese alterada de hormônios endócrinos, alteração na hematopoiese, inibição da formação óssea, balanço negativo do nitrogênio (resultando amplamente de proteólise e diminuição da síntese de proteína no músculo esquelético) com consequente gliconeogênese e alterações no mecanismo dos lipídios. A resposta de fase aguda pode ser relativamente transitória, revertendo ao normal com a recuperação ou pode ser persistente na doença crônica (KUSHNER, 1993).

Desta forma, a sua determinação isolada nem sempre é capaz de revelar informações que orientem uma conduta clínica. Portanto, recomenda-se que a determinação destas proteínas seja realizada sempre em associação com avaliações clínicas e outros exames complementares (SKINNER et al., 1991; SKINNER e ROBERTS, 1994).

A resposta de fase aguda tem como característica predominante ser uma reação generalizada do hospedeiro, não importando se está relacionada a um problema local ou sistêmico, além de possuir função de ligar moléculas prejudiciais e debris produzidos após o dano tecidual, proteger o hospedeiro contra o dano adicional e promover a eliminação de organismos patogênicos. Esta resposta é estimulada pela liberação de citocinas, tais como interleucinas-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF α) de macrófagos e monócitos no local das lesões inflamatórias ou infecção. No entanto, a análise destas citocinas é limitada nos bovinos, em decorrência da escassa disponibilidade de anticorpos essenciais ao desenvolvimento de ensaios diagnósticos sensíveis e pelo elevado custo (DINARELLO, 1984; BAUMANN e GAULDIE, 1994; GABAY e KUSHNER, 1999; ECKERSALL, 2000; ARTHINGTON et al., 2003; MURATA et al., 2004).

Respostas tecidual e vascular, associadas com produção de citocinas e outros mediadores, acarretam resposta sistêmica caracterizada por febre, anorexia, leucocitose, aumento da secreção do hormônio adrenocorticotrófico e de glicocorticoides, ativação do sistema complemento e alterações nas concentrações séricas de algumas proteínas (MURATA et al., 2004).

Uma proteína de fase aguda, que tenha importância diagnóstica, deve ter valores iniciais desprezíveis ou baixos que permaneçam inalterados com a idade, sexo ou constituição genética do animal, aumentando rapidamente para valores muito altos (>100x) em resposta a condições de

infecção ou inflamação, e que o seu nível de resposta seja equivalente à quantidade de tecido danificado. Os valores deverão decrescer rapidamente em resposta ao tratamento, mas não diminuirão se não houver recuperação e ao se instalar uma infecção secundária ou continuidade na condição inflamatória a permanência do aumento deverá ser notória. Condições não inflamatórias, estado nutricional, exercício, manejo ou outras formas menores de estresse não devem afetar as concentrações séricas de uma boa proteína de fase aguda (KENT, 1992; MURATA et al., 2004).

A presença de infecções bacterianas uterinas, no pós-parto, pode estimular a síntese de determinadas proteínas de fase aguda de interesse veterinário como o fibrinogênio, ceruloplasmina, proteína C-reativa, antitripsina, haptoglobina e a glicoproteína ácida (ALSEMGEEST et al., 1993; REGASSA e NOAKES, 1999).

3.4.1– ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

A técnica de eletroforese é o padrão atual de referência para o fracionamento das proteínas séricas. Seu princípio está baseado na migração das partículas de proteínas carregadas em um campo elétrico. A direção e taxa de migração das partículas fundamentam-se no tipo de carga elétrica (positiva ou negativa) e tamanho da proteína, intensidades da carga elétrica e do meio de suporte através do qual suas partículas são induzidas a migrar (KANEKO, 1989).

Há grande número de variáveis que influencia o padrão eletroforético das proteínas tais como, espécie, sexo, idade, manejo dos animais, condições ambientais, tipo de meio e técnicas utilizadas na eletroforese. Desta forma, é necessária a padronização dos valores normais do perfil eletroforético, assim como das alterações que ocorrem nas diversas enfermidades em cada espécie animal (KEAY e DOXEY, 1982).

Gordon (1975) relatou que a técnica de eletroforese em gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) possui diversas vantagens, como ser de execução relativamente simples, de baixo custo, necessitando de um volume reduzido de amostra, além de possibilitar a visualização de concentrações séricas extremamente baixas, como também a identificação de 20 a 30 proteínas com pesos moleculares que variam entre 24.000 a 340.000 daltons (FAGLIARI e SILVA, 2002).

Ao avaliar o proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida, às 48 horas de vida, Fagliari et al. (2006) constataram que esta técnica pode ser útil como método auxiliar de avaliação da imunidade passiva e de diagnóstico de doenças em bezerros neonatos, porém devem ser consideradas as diferenças fisiológicas, possivelmente decorrentes de influência genética, entre os proteinogramas de bezerros recém-nascidos, evitando o risco de interpretação incorreta dos resultados.

Pode-se considerar que a grande vantagem do uso da técnica SDS-PAGE, em relação às demais, é a possibilidade de identificação de maior número de proteínas específicas, em especial imunoglobulina G e proteínas de fase aguda, como ceruloplasmina, α 1-antitripsina, transferrina, haptoglobina e glicoproteína ácida (FAGLIARI et al., 2006).

Diante do fato do colostro apresentar proteínas em sua composição, e por serem estas sintetizadas sob controle genético, estando submetidas a diversas variações, a eletroforese em gel de poliacrilamida é um teste de fracionamento de proteínas mais acurado, principalmente quando comparada com o fracionamento em gel de agarose, uma vez que consegue identificar frações proteicas mais específicas, particularmente a IgG de cadeia leve que corresponde à fração específica dos anticorpos colostrais (KANEKO et al., 2008).

A eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS) é uma técnica importante para a separação de proteínas do leite, pois permite a identificação de várias frações proteicas, bem como sua quantificação (PATEL et al., 2007), além de ser utilizada ainda para caracterizar as variações genéticas individuais de cada fração proteica, tais como β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, albumina sérica e lactoferrina (FARREL et al., 2004).

A técnica da separação das frações proteicas do soro por eletroforese tem sido utilizada desde a década de 50 e foi considerada como importante para o estudo das proteínas do soro lácteo, utilizando a técnica de eletroforese em papel. Nesta época, Larson e Kendall (1957), caracterizaram a β -lactoglobulina como a principal proteína do soro lácteo e a α -lactoalbumina e albumina de origem plasmática como frações secundárias, constituindo o que chamaram de fração lactoalbumina. Ao mesmo tempo consideraram o complexo das imunoglobulinas como o principal constituinte da fração lactoglobulina, já as demais frações proteicas, detectadas no fracionamento eletroforético foram denominadas de proteose-peptonas.

Hiller (1976) utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida obteve uma relação linear para as quatro principais proteínas do soro lácteo: albumina de origem plasmática, β -lactoglobulina A, β -lactoglobulina B e α -lactoalbumina, enquanto, Kato et al. (1989) destacaram a importância deste mesmo método para o isolamento e identificação das proteínas e enzimas do leite, contribuindo para o esclarecimento da patogenia das mastites.

3.4.2 – PROTEINOGRAMA DO SORO SANGUÍNEO

3.4.2.1-Proteína Total

Ao realizar um estudo sobre o perfil metabólico de ovelhas da raça Border Leicester x Texel, Ribeiro et al. (2004) observaram uma redução no índice da proteína total com o avanço da gestação e da lactação, enquanto que Araújo (2009), avaliando também o perfil metabólico de ovelhas da

raça Santa Inês, verificou que no grupo das ovelhas prenhes de três fetos e as do grupo gestando dois, os índices das proteínas iniciam elevados, reduzem aos 74 dias de gestação e mantêm-se constantes até os 28 dias após o parto.

Avaliando o perfil eletroforético de ovelhas no pré e pós-parto, Lemos (2011) não constatou diferença estatística entre os momentos de observação. No entanto, verificou que do momento que antecedeu o parto até os primeiros 15/30 dias da lactação, houve discreto decréscimo na concentração da proteína total, para posteriormente elevar-se gradativamente até os 90 dias, cuja média foi de 7,38g/dL.

Birgel Júnior et al. (2003) verificaram que a diminuição da proteína total sérica foi decorrente, principalmente, da redução dos valores da fração gamaglobulina, já que no terço final da gestação houve diminuição estatística desta imunoglobulina. Com menos de 24 horas após o parto de vacas, Saut et al. (2009) constataram aumento gradativo nos primeiros dias do puerpério, atingindo valor significativamente elevado, nas amostras colhidas entre 15 a 30 dias após o parto.

O metabolismo e a quantidade de proteínas presentes no soro de neonatos pode sofrer influência de diversos fatores, entre os quais deve se destacar a mamada do colostro e idade. Ao nascimento, os ruminantes exibem baixos teores proteicos e após receberem o colostro, apresentam um aumento no total das proteínas devido à absorção intestinal de macromoléculas, uma vez que a concentração sérica de proteína total reflete a quantidade de albumina e de globulina. Desse modo, a sua quantificação nos borregos, pode ser utilizada para avaliação da aquisição de imunidade passiva. Após a sua absorção, inicia-se uma gradativa diminuição das taxas séricas de proteínas, decorrente do catabolismo das imunoglobulinas adquiridas passivamente do colostro materno, até verificar-se uma estabilização que reflete a produção endógena de imunoglobulinas pelo neonato (FLAIBAN et al., 2009; VERDURICO, 2010).

Nunes (2006) verificou valores médios de proteína total sérica antes da ingestão do colostro de 4,65 g/dL, em cordeiros provenientes de gestação simples e gemelar. Após 24 horas do nascimento, a concentração sérica desta proteína foi de 7,24 g/dL e 6,52 g/dL, respectivamente.

Leal et al. (2003) verificaram que o teor sérico da proteína total foi mínimo nos ruminantes com até oito horas de vida, se elevando já no primeiro dia de idade e progressivamente até o quarto dia, quando alcançou o valor máximo seguindo, então, com pequenas oscilações até o 30º dia de idade.

A concentração média da proteína total sérica dos borregos advindos de parto simples, às 24 horas de vida (7,24g/dL) foi estatisticamente maior ao ser comparado aos animais oriundos de parto duplo (6,52g/dL), sendo justificado por Nunes (2006) se dever ao fato das ovelhas que tiveram parto duplo apresentarem escore corporal inferior àquelas que tiveram partos simples, indicando pior estado nutricional, o qual pode afetar a produção do colostro.

3.4.2.2-Albumina

É a mais abundante das proteínas plasmáticas, representa de 50% a 65% do total das proteínas séricas, sendo normalmente retida pelos capilares, porém diante de uma injúria tecidual é a primeira a ser perdida do sangue. Esta fração possui uma importante função de regulação e manutenção da pressão colóide-osmótica do sangue, como também de transporte de ácidos graxos, bilirrubina, muitas drogas, como penicilina, aspirina, histamina, além de cátions e elementos traços, tais como, cálcio, cobre e zinco. A albumina é sintetizada no fígado e catabolizada por vários tecidos. Sua síntese é influenciada pela nutrição, balanço hormonal, condição geral do fígado, estresse e concentração extravascular desta fração (CARROL e KANEKO, 1967; JAIN, 1993).

Em quase todas as espécies animais, a albumina é a proteína de fase aguda com maiores impactos, ocorrendo uma diminuição na sua concentração sérica, isto devido principalmente às alterações da função renal ou gastrointestinal, ou ainda, diminuição na síntese hepática permitindo que os aminoácidos sejam utilizados para gerar outras proteínas de fase aguda que atuarão no processo inflamatório (KANEKO et al., 1997).

A desnaturação da albumina no local da inflamação pode ocorrer devido a mudanças na temperatura e no pH, resultando na liberação de aminoácidos que podem ser utilizados na reparação tecidual (MAZZAFERRO et al., 2002).

A diminuição da síntese de albumina ocorre nos processos inflamatórios sistêmicos devido à produção prioritária de proteínas de fase aguda positiva. No entanto, a hipoalbuminemia pode comprometer o aporte de zinco, substratos energéticos e drogas para os tecidos inflamados, justificando o retardo no processo de reparação em pacientes enfermos com déficit dos níveis de albumina (MAZZAFERRO et al., 2002).

Alguns fatores como gestação, lactação e idade podem alterar os níveis das proteínas. Nas ovelhas, durante a prenhez, a concentração da albumina pode diminuir na fase intermediária e retornar aos valores de normalidade na fase final da gestação (ECKERSALL, 2008).

Ao avaliar a variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de vacas holandesas antes e após o parto, Feitosa e Birgel (2000) constataram uma pequena diminuição dos teores de albumina e da fração betaglobulina, associada a um discreto aumento das concentrações da alfa e gamaglobulinas, no momento do parto. A partir do parto, tanto a albumina quanto as demais frações proteicas elevaram-se nos períodos subsequentes.

Assim como verificado por Feitosa e Birgel (2000), Saut et al. (2009) também constataram elevação dos valores séricos de albumina nas cabras (de $2.871,6 \pm 320,9$ mg/dL, no primeiro dia após o parto para 3.227 ± 358 mg/dL aos dez dias após o parto), sem que qualquer diferença estatística fosse observada.

No recém-nascido, a concentração sérica de albumina é pouco variável e a diferença na concentração sérica da proteína total, antes e após a ingestão do colostro, se deve quase que exclusivamente à absorção das globulinas presentes no colostro, dentre as quais se encontram as imunoglobulinas (FEITOSA et al., 2001).

3.4.2.3-Transferrina

A transferrina, a qual faz parte da fração beta-globulina, juntamente com outras proteínas como a lipoproteína beta, ferritina, hemopexina, plasminogênio, fibrinogênio, complemento C3 e C4 e proteína C-reativa, é uma glicoproteína plasmática com função primordial de transporte do ferro no plasma e no líquido extracelular para suprir as necessidades teciduais. Por esta razão é considerada uma proteína ligante do ferro, sendo sua secreção estimulada a partir da interleucina-1, possui meia-vida em torno de 8 a 10 dias, além de atividade antiviral e antibacteriana. A concentração da transferrina sérica aumenta em estados de deficiência férrica e prenhez e diminui em doenças hepáticas, infecções agudas e crônicas e em casos de leucemia (JAIN, 1993; TIZARD, 2002).

Em ruminantes é considerada uma proteína de fase aguda negativa, apresentando diminuição nos níveis séricos durante as infecções. Os níveis de ferro nos fluidos corpóreos têm influência direta sobre as invasões bacterianas, em virtude da grande maioria das bactérias necessitarem do ferro para o seu crescimento. Quando os níveis estão elevados, os animais tornam-se mais vulneráveis a infecção bacteriana (TIZARD, 2002).

Um ponto que merece ser destacado ao se estudar a transferrina são as diferenças existentes com a lactoferrina, as quais se devem a sua elevada afinidade para o Fe^3 e maior estabilidade sob condições ácidas. Além de serem verificadas condições muito baixas desta proteína no soro ($0,01\mu M$), enquanto que o inverso é observado na transferrina ($30\mu M$) (BULLEN et al., 1978).

Ao pesquisar o comportamento da transferrina em vacas, Birgel Júnior et al. (2003) observaram que os seus teores séricos apresentavam valores mínimos no terço final da gestação ($0,88 \pm 0,13$ g/dL), enquanto que Saut et al. (2009) verificaram sua diminuição sérica após o parto das vacas ($132,8 \pm 67,4$ mg/dL), constatando valor mínimo entre o sexto e o oitavo dia ($38,03 \pm 19,47$ mg/dL) para se elevar novamente entre o nono e o 15º dia pós-parto ($108,1 \pm 62$ mg/dL).

Nas bezerras, ao realizar um estudo sobre o proteinograma sérico de animais sadios da raça Holandesa, no primeiro mês de vida, Leal et al. (2003), observaram somente pequenas oscilações nos seus índices no período avaliado.

3.4.2.4-Imunoglobulinas

As cadeias leves de uma imunoglobulina típica contém cerca de 110 aminoácidos, enquanto que as cadeias pesadas contém aproximadamente 500 aminoácidos. Existem cinco tipos distintos de cadeias pesadas imunoglobulínicas ($\alpha, \gamma, \delta, \epsilon$ e μ) que determinam sua classe ou isótopo. As imunoglobulinas com as cadeias pesadas α são chamadas de imunoglobulinas A (IgA) e aquelas com cadeias γ são chamadas de IgG (TIZARD, 2002; ECKERSALL, 2008).

a) Imunoglobulina A (IgA)

Exibe mobilidade eletroforética na região β para a γ e tem uma meia-vida biológica de seis dias. Esta imunoglobina é importante na defesa local, uma vez que protege várias superfícies corpóreas (trato intestinal, respiratório e urogenital, glândula mamária e o olho) da invasão bacteriana e viral. Anticorpos específicos presentes no colostro provém imunidade passiva ao recém-nascido contra infecções bacteriana e viral neonatal (KANEKO et al., 1997; TIZARD, 2002).

Lemos (2011) verificou discreto decréscimo, não significativo, da IgA de ovelhas do momento que antecedeu o parto até os 15 dias da lactação e posteriormente na fase de desmame. Esta autora justificou este comportamento ser em decorrência à demanda de imunoglobulinas para a glândula mamária, elevando os seus níveis na fase intermediária da lactação.

Ao analisarem a influência do puerpério sobre o proteinograma sérico de cabras, Saut et al. (2009) constataram menor valor de IgA ($124 \pm 62,1 \text{ mg/dL}$) imediatamente após o parto e mais elevados aos 30 dias após o parto ($193,1 \pm 55,7 \text{ mg/dL}$).

Fagliari et al. (2006), ao avaliarem a transferência passiva da IgA, em animais da raça Holandesa, encontraram valores entre 0,26 e 0,40g/dL nos bezerros às 48 horas após o nascimento. Enquanto que Juliano et al. (2009), realizando um amplo estudo, no qual dividiu os bovinos da raça Curraleiro em cinco grupos, com faixa etária de 0 a seis meses até o último grupo com animais de 37 até acima de 48 meses, verificaram valor médio dessa variável de 0,31 g/dL, ao longo do período experimental.

b) Imunoglobulina G (IgG)

É a classe de imunoglobulina que aparece em maior concentração no soro e por esta razão, desempenha um papel principal nos mecanismos de defesa dependentes de anticorpos. Devido ao seu tamanho relativamente pequeno, ela pode sair dos vasos mais facilmente que outras classes de imunoglobulinas e, por isso, participa prontamente na defesa dos espaços teciduais e superfícies corpóreas. A imunoglobulina G pode opsonizar, aglutinar e precipitar antígenos, mas só ativa a cascata do complemento se houver acúmulo suficiente e numa configuração correta sobre a superfície do antígeno. É a principal imunoglobulina encontrada tanto no colostro quanto no leite e

isso resulta de uma transferência seletiva da corrente sanguínea para a glândula mamária (RUDNIK, 2001).

Para execução da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS-PAGE, as imunoglobulinas G (IgG) são divididas em duas cadeias, leve (IgGCL) e pesada (IgGCP), em virtude do uso da substância 2-mercaptoetanol na solução tampão que é empregada na corrida eletroforética (FAGLIARI e SILVA, 2002).

Ao avaliar a influência do puerpério sobre o proteinograma sérico de caprinos da raça Saanen obtido por eletroforese em gel de acrilamida, Saut et al. (2009) não verificaram influência desta fase nos teores séricos de imunoglobulinas, com os índices de IgG de cadeia pesada oscilando entre $946,1 \pm 287,3$ e 1184 ± 347 mg/dL, de IgG de cadeia leve variando entre $285,5 \pm 162,9$ e $433,5 \pm 215,7$ mg/dL e de IgA entre $124 \pm 62,1$ e $193,1 \pm 55,7$ mg/dL, sem que qualquer diferença estatística fosse detectada.

Leal et al. (2003) observaram nos bezerros da raça Holandesa que a concentração sérica de gamaglobulina, a qual foi mínima até oito horas de idade, apresentou elevação significativa até dois dias de idade, seguido por estabilidade até o 11º dia, para diminuir progressivamente até os 30 dias. Comportamento semelhante foi observado por Borges et al. (2001), em bezerros também da raça Holandesa, tanto para as imunoglobulinas quanto para a proteína total.

3.4.2.5-Haptoglobina

É uma alfa-glicoproteína sérica, estimuladora da angiogênese, reguladora do metabolismo lipídico, possuindo efeito imunomodulador e habilidade de se ligar a hemoglobina livre na circulação, com o intuito de prevenir a perda de ferro sanguíneo e promovendo ação bacteriostática por meio do complexo hapto-globina que é rapidamente retirada da circulação pelo sistema mononuclear fagocitário, sendo por este motivo, assim denominada e primeiro reconhecida, nos humanos, por Polonovski e Jayle (1940) (ELSON, 1974; EATON et al., 1982; THOMAS, 2000; PETERSEN et al., 2004; ECKERSALL, 2008).

Esta proteína de fase aguda, principalmente secretada pelo fígado, é um marcador inflamatório de grande importância nos ruminantes, possuindo valores circulantes muito baixos nos animais saudáveis, com concentrações de até 10mg/dL, porém se elevando em mais de 100 vezes quando estimulada (SKINNER et al., 1991; ECKERSALL et al., 1999; CHAN et al., 2004; HISS et al., 2004). Nos humanos, pode também participar dos mecanismos que acontecem no útero gestante e que são necessários para a manutenção da integridade da unidade feto-placentária (BERKOVA et al., 2001).

Em um estudo realizado por Bastos (2008) com o intuito de estabelecer a cinética do fibrinogênio, haptoglobina, seromucoide e ceruloplasmina em ovelhas da raça Santa Inês, ao longo

da gestação e no pós-parto, ficou constatada uma elevação nos índices de haptoglobina entre os dias 38 e 84 da gestação, entre 121-126 pré-parto, um maior aumento durante os dias 135-139 e suas maiores concentrações nos dias 1-7 e 15-21 dias pós-parto.

Skinner e Roberts (1994) relataram esta proteína como indicador de infecção bacteriana aguda em ovelhas, onde a haptoglobina foi 34% mais sensível que a contagem de leucócitos e 25% mais sensível que a contagem de neutrófilos, sendo que valores menores de 20mg/dL são considerados ausência de infecção ou inflamação em ovelhas.

O aumento da haptoglobina é rápido, 24-48 horas após o dano tissular, se elevando um pouco antes do fibrinogênio (COLE et al., 1997) podendo, então, detectar animais infectados antes da apresentação de sinais clínicos (GONZÁLEZ et al. 2007).

Chan et al. (2004) verificaram valores elevados de haptoglobina ($113,35\text{mg/dL} \pm 62,71$), em vacas com desordens reprodutivas no pós-parto quando comparada com sadias ($10,46\text{mg/dL} \pm 6,1$), demonstrando ser, esta variável, um útil indicador nesta fase. Além disso, perceberam ausência de diferença na variação de suas concentrações séricas tanto no frio quanto na estação quente, indicando que a sua mensuração pode ser realizada ao longo do ano, sem sofrer alterações.

Sheldon et al. (2003) também observaram elevação da haptoglobina sérica de vacas entre sete e 28 dias após o parto e com elevada contaminação bacteriana no útero, quando comparada com animais saudáveis (média de $12,87\text{mg/dL} \pm 2,01$ e $6,82\text{mg/dL} \pm 0,66$).

Ao mensurar a haptoglobina em vacas acometidas por diferentes enfermidades, Skinner et al. (1991) verificaram que o trauma da passagem do feto durante o parto não é capaz de elevar os valores desta proteína, porém a retenção de placenta sim. Além disso, a sua determinação pode ser útil quando desordens metabólicas são agravadas por uma infecção intercorrente ou para a confirmação do seu valor na detecção de infecção bacteriana aguda e diferenciá-la das infecções virais e parasitológicas.

Ao realizar um estudo sobre a concentração da haptoglobina sérica como um indicador prognóstico dos casos de distocia ovina, Scott et al. (1992) verificaram índices significativamente aumentados nas ovelhas que produziram borregos normalmente vivos quando comparadas com ovelhas que não estavam gestantes, indicando a possibilidade de um pequeno aumento desta proteína ao redor do parto. Foi verificado também que nas ovelhas, onde a distocia foi corrigida por cesariana e que apresentaram concentração de haptoglobina sérica acima de 1g/l, esses animais morreram em decorrência de derrame de material do útero para a cavidade peritoneal durante a cirurgia, levando a um choque endotoxêmico ou peritonite.

Em um estudo semelhante ao verificado acima, Azib e Taha (1997) constataram uma correlação positiva entre a concentração da haptoglobina sérica e o intervalo entre o início da distocia e do tratamento, por cesariana ($50,3\text{mg/dL} \pm 20,7$) ou manualmente assistido ($3,83\text{mg/dL} \pm$

15,1). Estes autores sugerem que as concentrações desta proteína são indicativas da presença e grau de dano tecidual que ocorre na distocia, além de indicarem a intervenção precoce para minimizar as complicações advindas no pós-parto.

As ovelhas que apresentam concentração de haptoglobina sérica acima de 100mg/dL associada a feto enfisematoso, no útero, podem sobreviver se o feto for retirado via vaginal. No caso de se realizar uma cesariana, a taxa de sobrevivência pós-cirurgia é reduzida, se a concentração de haptoglobina sérica for superior a 100mg/dL no período da cirurgia (SCOTT et al., 1992).

Ao avaliar a relação entre involução uterina e a presença de bactéria intra-uterina nas ovelhas, Regassa e Noakes (1999), verificaram que o pós-parto normal de ovelhas está associado a elevações da haptoglobina sérica, apresentando valores em torno de 10mg/dL na primeira semana após o parto e retornando aos seus níveis basais abaixo de 5mg/dL na segunda semana, coincidindo, esta resposta, com uma secreção substancial de prostaglandina F_{2α}, a qual pode estar associada com o processo fisiológico normal de involução uterina, regeneração e reparos endometriais. No entanto, na presença de contaminação bacteriana uterina, a resposta da haptoglobina apresenta maior sensibilidade, atingindo concentrações em torno de 110mg/dL e 40mg/dL na primeira e segunda semana, respectivamente, sendo detectados níveis basais na terceira semana após o parto. Além disso, foi verificado que a referida infecção bacteriana, com subsequente metrite, não afetou a taxa de involução do útero, a qual foi completada na quarta semana pós-parto (REGASSA et al., 2002).

Ao verificar o comportamento de algumas proteínas de fase aguda em vacas no pós-parto, Hirvonen et al. (1999) constataram que a concentração da haptoglobina no plasma permaneceu baixa na maioria dos animais com metrite aguda, exceto em três animais severamente afetados, sendo posteriormente abatidos devido a pobre condição e fertilidade reduzida. Segundo estes autores, na infecção uterina aguda, uma concentração elevada de haptoglobina indica prognóstico desfavorável para concepção futura.

3.4.2.6- Ceruloplasmina

É uma ferroxidase, sintetizada pelo fígado, com meia-vida plasmática de cerca de quatro dias, está presente no soro como uma α_2 -globulina, contendo cobre que oxida metal ferroso tóxico para sua forma férrica não tóxica. Em decorrência desta íntima relação com o cobre, é possível observar um aumento fisiológico nas concentrações séricas em cordeiros que recebem suplementação contendo este mineral. Esta proteína possui a função de proteger o tecido de danos provocados por radicais livres ferro-mediados estando envolvida em atividades anti-oxidantes e citoprotetoras (SCHOSINSKY et al., 1974; DENKO, 1979; JAIN, 1993; PATEL et al., 2002; SENTHILKUMAR et al. 2009).

A fonte dietética de cobre constitui um fator de influência na concentração sérica desta variável em ovelhas, sugerindo que os níveis de ceruloplasmina decresçam durante a gestação devido à transferência do cobre materno para o feto, o que é crítico para a sobrevivência de ruminantes jovens. Estudos experimentais demonstraram que o suprimento adequado deste elemento, manteria em níveis normais a atividade oxidásica da ceruloplasmina em ovelhas gestantes (ECKERT et al., 1999; ROMBACH et al., 2003; JÓHANNESSEN et al., 2005).

Pelo fato da gestação normal estar associada a um aumento no estresse oxidativo e peroxidação de lipídio, a ação benéfica da ceruloplasmina é devido a sua capacidade antioxidante. Com isto, Gursel et al. (2010) ao estudarem as variações nos níveis séricos desta variável em ovelhas submetidas a uma dieta deficiente em energia durante o final da gestação, verificaram que a ceruloplasmina é um indicador sensível de deficiência alimentar nos últimos dias da gestação, sendo de grande interesse nas ovelhas com toxemia da prenhez.

A ceruloplasmina é sequestrada durante a coagulação, resultando em baixos valores no soro em relação ao plasma. No entanto, um benefício na sua quantificação se deve ao monitoramento de processos inflamatórios e infecciosos no periparto de ovinos (REGASSA e NOAKES, 1999; LAVEN e LIVESEY, 2007).

Em um estudo realizado por Bastos (2008), em ovelhas da raça Santa Inês, ao longo da gestação e no pós-parto, foi verificado um decréscimo da ceruloplasmina a partir do dia 17 da prenhez e permaneceu significativamente diminuída até o dia 84, em comparação com os valores antes da sincronização estral. Contudo, o período periparto não exerceu influência sobre a atividade desta proteína.

Pesquisas conduzidas em ovelhas da raça Merino demonstraram que a atividade da ceruloplasmina decresce entre os dias 40 e 130 de gestação, atingindo valores em torno de 80 U/mL, em comparação com o valor de 120 U/mL relativo ao início da gestação (KINCAID e WHITE, 1988).

Matos (2005) não observou influência da ceruloplasmina sobre a idade, sexo e raça em borregos resultantes do cruzamento da raça Dorper com a Morada Nova, Rabo Largo e Santa Inês, do nascimento aos seis meses de idade.

3.4.2.7 - α 1-Glicoproteína ácida

É uma sialoglicoproteína (41-43kDa) sintetizada e secretada principalmente por hepatócitos, que em situação de lesão local, pode atuar contribuindo para a manutenção da homeostase pela redução do dano tecidual associado com o processo inflamatório ocorrendo nos tipos de células extra-hepáticas, notavelmente células epiteliais e endoteliais. Já de forma sistêmica, há duas

principais funções biológicas que são a ligação de drogas e a imunomodulação (FOURNIER et al., 2000)

A α 1-glicoproteína ácida juntamente com a albumina e as lipoproteínas pertencem ao grupo das proteínas mais importantes no plasma, podendo se ligar a mais de 300 tipos de moléculas e drogas. Como a albumina, a α 1-glicoproteína ácida se liga e transporta substâncias de origem endógena ou exógena como a heparina, histamina, serotonina e corticoides. Esta capacidade pode ajudar a manter a ligação e o transporte de drogas comprometidas em respostas de fase aguda, em que a albumina, uma proteína de fase aguda negativa diminui sua concentração (FOURNIER et al., 2000).

A expressão gênica da α 1-glicoproteína ácida é controlada por uma combinação da regulamentação dos seus principais mediadores, ou seja, glicocorticoides e uma rede de citocinas, envolvendo principalmente a interleucina-1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral – α (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6). Esta variável é um agente antiinflamatório natural, na medida em que inibe a ativação de neutrófilos e aumenta a secreção de IL-1 antagonista do receptor de macrófagos (FOURNIER et al., 2000; HOICHEPIED et al., 2003).

Ao avaliar a influência do puerpério sobre o proteinograma sérico de caprinos da raça Saanen, Saut et al. (2009) observaram que durante a primeira semana do puerpério, ocorre um aumento das concentrações da α 1-glicoproteína ácida.

Sheldon et al. (2001) também relataram aumento da α 1-glicoproteína ácida no puerpério fisiológico de vacas que voltou a normalidade somente aos 21 dias após o parto.

Ao avaliar três proteinogramas distintos de bezerros da raça Holandesa, às 48 horas após o nascimento, Fagliari et al. (2006) verificaram valores médios de 23,84mg/dL pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida. Utilizando a mesma técnica, Juliano et al. (2009) verificaram a menor média em bezerros da raça Holandesa com a faixa etária de sete a 12 meses e a maior observada nos animais com idades entre 37 a 48 meses.

Ao se analisar cada uma das proteínas de fase aguda, verifica-se que além das suas extensas aplicações já descobertas e reconhecidas, é provável que uma variedade de novas proteínas e seus mediadores possam ser encontrados e introduzidos à ciência veterinária em um futuro próximo. Uma busca contínua por substâncias, seguida por intensas pesquisas, não somente acumularia conhecimento a cerca de suas possíveis aplicações, como também forneceria maiores subsídios para uma ampla compreensão do mecanismo imune inato e pato-fisiologia da infecção ou inflamação nos animais (MURATA et al., 2004). Desta forma, espera-se que no futuro, ensaios para as proteínas de fase aguda sejam rotineiramente usados para avaliar a saúde animal, otimizar taxas de produção, monitorar terapias com antibióticos, detectar doenças, tais como mastites nas vacas de leite e avaliar a saúde dos animais ao abate (SKINNER, 2001).

3.4.2.8 - α_1 -Antitripsina

A α_1 antitripsina é uma globulina que ao ser separada eletroforéticamente, encontra-se inserida na fração α_1 - globulina, correspondendo a cerca de 65% desta fração. Fazem parte da fração alfa-globulina a α_1 -anti-trombina III, α_1 e α_2 - lipoproteína, α_2 - macroglobulina, ceruloplasmina, haptoglobina, proteína C-reativa, α_1 -antitripsina, dentre outras, ocorrendo nesta última, um rápido aumento, porém de forma inespecífica, em casos de processos inflamatórios (KANEKO et al., 1997). Nas vacas, níveis de ceruloplasmina aumentam de 70 a 126 por cento, enquanto que os de α_1 - antitripsina elevam cerca de 35 por cento, segundo Conner et al. (1988).

Com o objetivo de estudar o proteinograma sérico de bezerras saudáveis, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida, Leal et al. (2003) constataram haver estabilidade na fração alfa-globulina, permitindo afirmar que o índice desta fração ao nascimento (1.095 g/dL) é mantido durante os primeiros 30 dias de idade (1.010 g/dL).

Ao avaliar os níveis séricos das proteínas α_1 - antitripsina, ceruloplasmina, fibrinogênio, haptoglobina e seromucoide, em quatro bezerros de três a quatro meses de idade e submetidos a diferentes administrações subcutâneas de óleo de terebintina, Conner et al. (1988) verificaram que a haptoglobina estava ausente nos animais saudáveis, porém seus níveis, juntamente com os de seromucoide variaram com a dose, causando desta forma, dano tecidual mais extenso, ao contrário do observado com as proteínas α_1 - antitripsina e ceruloplasmina, onde não houve variação, as quais são produzidas como uma resposta geral a injúria tecidual.

3.4.3- PROTEINOGRAMA DO COLOSTRO

As proteínas do leite originam-se dos aminoácidos livres, presentes na corrente circulatória, sendo alguns pré-formados no sangue e incorporados ao leite, outros, previamente, passariam por transformações enzimáticas. Larson (1979) afirmou também que essas proteínas seriam específicas da lactação ou estariam presentes no leite, em menor quantidade, oriundas do sangue, possuindo propriedades imunológicas ou enzimáticas, formando um complexo sistema proteico no leite. Nele seriam incorporadas as frações albumina plasmática e gamaglobulina e, uma pequena porção da caseína, ao passo que, outras proteínas lácteas, como as frações: caseína, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, seriam exclusivamente sintetizadas na glândula mamária, durante a galactopoiese, por células altamente diferenciadas (SCHALM et al., 1971; LARSON, 1979).

O colostro é secretado e armazenado na glândula mamária durante os últimos dois a sete dias da gestação e primeiros dois a três dias pós-parto, sendo requeridos para os borregos, entre 180 e 210 mL de colostro/kg de peso corporal, pois os ruminantes, devido ao seu tipo de placenta ser sindesmocorial, somente transferem imunidade passiva aos seus descendentes após o nascimento por meio do colostro. Este tipo de placenta leva ao bloqueio da passagem transplacentária de

anticorpos, caracterizando estes animais como hipo ou agamaglobulinêmicos ao nascimento, necessitando da ingestão rápida, e subsequente absorção de colostro, que é rico em imunoglobulinas (MELLOR e MURRAY, 1986; ALDRIDGE et al., 1992; AZAB e ABDEL-MAKSUD, 1999; BORGES et al., 2001; TIZARD, 2002; STELWAGEN et al., 2009).

A quantidade e a concentração da gama-globulina no colostro pode influenciar a taxa de transferência, e, portanto, o nível desta imunoglobulina sérica no cordeiro. Além disso, é importante que os borregos recebam suprimento adequado de colostro nas primeiras 24h após o parto (MELLOR e MURRAY, 1986; CAMPOS et al., 2009).

Com o intuito de analisar o colostro de ovelhas gestando um ou mais borregos, Csapó et al. (1994) verificaram que na primeira ordenha foi obtido 19,7 mg/mL mais IgG para ovelhas produzindo gêmeos quando comparado com aquelas parindo um único produto.

Em um estudo utilizando 36 ovelhas bem alimentadas com escore corporal entre 3 e 4 e dez fêmeas, mal alimentadas e com escore entre 1,5 e 2, Mellor e Murray (1986) verificaram que no grupo de ovelhas bem alimentadas gestando um ou dois fetos, não houve variação significativa na produção do colostro durante as 18 horas após o nascimento e a produção total foi cerca de dois litros. Em contrapartida, a produção das ovelhas mal alimentadas e esperando gêmeos foi menor, além de sua produção total ser somente a metade em relação ao grupo de animais bem alimentados.

Já nas ovelhas múltíparas obesas, ao avaliar o desenvolvimento da glândula mamária nos animais submetidos à restrição alimentar durante o final da gestação, foi verificado que o desenvolvimento e crescimento dos fetos e da glândula mamária têm uma prioridade mais elevada para nutrientes do que para o tecido corporal, e, portanto, restrição alimentar durante final da gestação não afetou a performance lactacional da mãe (NORGAARD et al., 2008).

Ao avaliarem as concentrações da proteína total do colostro de cabras, Silva (2005) obteve valores de $16,46 \pm 1,40$ g/dL e $6,39 \pm 0,35$ g/dL imediatamente após o parto e às 48 horas após o parto, respectivamente. Após esse período, Ontsouka et al. (2003) verificaram diminuição na proteína total do leite, devido a diluição resultante da elevada produção, além de terem sido observadas concentrações de gordura mais elevadas no colostro e mais baixas de lactose, se devendo a entrada de água no leite através dos efeitos osmóticos.

Kehoe et al. (2007) observaram porcentagem média de proteína no colostro de 14,9% e concentrações de IgG1, IgG2, IgA, IgM e lactoferrina de 35,0, 6,0, 1,7, 4,3 e 0,8mg/mL, respectivamente, além de concentrações dos minerais cobre, ferro e zinco no colostro de vacas serem 0,3 mg/kg, 5,3 mg/kg e 38mg/kg, respectivamente. Kume e Tanabe (1993) verificaram que o estatus mineral dos recém-nascidos não depende somente do consumo mineral do colostro, porém também da transferência mineral placentária da mãe durante a gestação.

Ao analisar e comparar a produção do colostro de ovelhas mestiças nascidas de ambas aptidões, tipo leite e carne e verificar as implicações para a sobrevivência do recém-nascido foi percebido que as ovelhas tipo leite produziram mais colostro do que as do tipo carne e que esta última produziu colostro contendo uma maior concentração de IgG e menor de gordura. A gordura e lactose no colostro são requeridos pelo recém-nascido para produção de calor e a prevenção de hipotermia. Borregos nascidos de ovelhas tipo carne, apesar de poderem receber proteção suficiente contra doenças infecciosas, podem estar em maior risco de hipotermia do que borregos nascidos de ovelhas tipo leite devido à redução na quantidade de gordura do leite à sua disposição (PATTINSON e THOMAS, 2004).

A imunoglobulina G é encontrada no leite, após ser seletivamente transudada do plasma sanguíneo para o interior da glândula mamária pelas células túbulos-acinares do úbere, enquanto que a IgA é sintetizada dentro da glândula mamária por células plasmáticas que têm migrado do trato gastrointestinal. As concentrações lácteas dessas frações proteicas foram maiores em amostras de leite de vacas no final da lactação, sendo seus valores exageradamente elevados durante a fase colostrada. No entanto, atenção deve ser dada com relação às vacas de alta produção, que por ser a concentração de imunoglobulina, inversamente relacionada com o volume de colostro produzido, esses animais podem produzir colostro com uma baixa concentração de imunoglobulinas até na primeira ordenha (SCHALM et al., 1971; MAUNSELL et al., 1998; WHEELER et al., 2007).

Ao avaliar a proteína total e a gama-globulina da secreção mamária do colostro de cabras por meio de eletroforese em gel de agarose, Chen et al. (1998) perceberam que a α -lactoalbumina e β -lactoglobulina constituíram uma parte estável da proteína total, enquanto que a caseína não foi um componente significativo ao longo dos estudos. Foi verificado também que a proteína total e a gama-globulina colostrada diminuíram no parto de 16,46 g/dL, 16,15 g/dL e 7,22 g/dL, 7,92 g/dL, respectivamente, em dois rebanhos analisados, para 9,10 g/dL, 7,86g/dL e 3,94 g/dL, 2,40g/dL, respectivamente às 12 horas após o parto, sendo verificada uma maior redução da gama-globulina.

Estrella (2001) ao avaliar os valores médios de proteína total, em diferentes fases da lactação de vacas, verificou que as concentrações de proteína total do leite foram maiores nos primeiros estágios, observando-se decréscimo na fase intermediária (período contido entre o 60° e 210° dia) e final da lactação, ou seja, após 210° dia de lactação, quando os referidos valores tenderam a novo aumento.

Segundo estudos de Schanbacher e Larry Smith (1974), no leite de vacas em lactação plena, as principais proteínas lácteas foram a α -lactoalbumina e β -lactoglobulina e o transporte de imunoglobulinas se reduziria nessa fase da lactação. No entanto, na fase de involução da glândula mamária, as concentrações lácteas de lactoferrina aumentavam e, no período caracterizado pela formação do colostro a concentração láctea dessa proteína diminuía, significativamente.

A lactoferrina é uma proteína que, ligada ao ferro, relaciona-se às atividades da transferrina, sendo encontrada em inúmeras secreções orgânicas e em grânulos de neutrófilos, estando envolvidas em atividade antimicrobiana, devido ao seu potente efeito inibitório. Sua presença por toda a parte do corpo, no soro, linfa, glândula mamária e uma variedade de secreções externas (tais como leite) pode ser um formidável impedimento para este crescimento bacteriano (BULLEN et al., 1978; FURMANSKI et al., 1989; KANEKO, 1989).

Rocha et al. (2009) observaram que o número de parições influenciou significativamente os teores de IgA, albumina de origem plasmática, IgG, β -lactoglobulina, e de α -lactoalbumina, como também foram constatadas alterações marcantes entre as concentrações destas proteínas no colostro e no leite.

Östensson (1993) ao examinar amostras de leite de vacas sadias, em vários estágios da lactação – desde dois dias após o parto (colostro) até o período final, constatou maior concentração de α 1-antitripsina e de albumina de origem plasmática em amostras colhidas logo após o parto em comparação àquelas colhidas na fase final, explicando ser devido ao aumento da permeabilidade capilar do sistema circulatório do úbere nos períodos que antecedem ou sucedem, imediatamente, a parturição, resultando no aumento de componentes sanguíneos transudados para o leite. Nos estágios intermediários da lactação, o referido pesquisador não observou variações que pudessem ser atribuídas às determinadas fases sobre os parâmetros lácteos avaliados e que, tanto a albumina, quanto a antitripsina apresentaram os maiores valores no final da lactação.

Levieux e Ollier (1999) utilizando a técnica de imunodifusão radial para avaliar o proteinograma do leite de vacas, demonstraram maiores concentrações de albumina de origem sérica ($121\text{mg/dL} \pm 44$), imunoglobulina G ($5980\text{mg/dL} \pm 2850$), β -lactoglobulina ($1430\text{mg/dL} \pm 460$) e α -lactoalbumina ($204\text{mg/dL} \pm 60$) no colostro com tendência de diminuição desses valores ao compararem com aqueles obtidos nas colheitas no 30º dia de lactação. As concentrações de IgG, β -lactoglobulina e de albumina de origem sérica diminuíram abruptamente nas ordenhas subsequentes, enquanto que a α -lactoalbumina diminuiu mais lentamente.

Em amostras de colostro de cabra, Levieux e Ollier (1999) determinaram concentrações de $4790\text{ mg/dL} \pm 2550\text{ mg/dL}$ de IgG, $3070\text{ mg/dL} \pm 1040\text{ mg/dL}$ de β -lactoglobulina, $277\text{ mg/dL} \pm 82\text{ mg/dL}$ de α -lactoalbumina e $297\text{ mg/dL} \pm 246\text{ mg/dL}$ de albumina sérica na primeira ordenha. Estes autores também verificaram que os índices de IgG, β -lactoglobulina e albumina sérica diminuíram abruptamente nas ordenhas subsequentes, enquanto que as concentrações de α -lactoalbumina diminuíram lentamente e permaneceram estáveis após o oitavo dia de lactação.

A principal proteína no leite de ovelha é a caseína (α -caseína, β -caseína e k-caseína) e além desta, encontramos também a β -lactoglobulina, α -lactoalbumina e seroalbumina, sendo as duas primeiras as maiores proteínas séricas. No entanto, as imunoglobulinas, seroalbuminas e proteose-

peptonas (produtos da quebra da β -caseína pela plasmina), estão presentes em pequenas concentrações (PARK et al., 2007).

Segundo Varnam e Sutherland (1995) a caseína responde por mais de 80% da constituição das proteínas totais do leite e a proporção relativa de proteínas do soro frente à caseína variam segundo o estágio de lactação. O leite produzido nos primeiros dias depois do parto e no final da lactação tem um conteúdo proteico muito maior que o leite da metade da lactação. Este incremento está acompanhado de níveis elevados de proteínas do soro sanguíneo.

Larson e Kendall (1957), estudando o fracionamento do soro lácteo de vacas por eletroforese em papel, observaram que vacas da raça Holandesa, após o parto, possuíam 50 a 55% de β -lactoglobulina, enquanto as amostras provenientes de vacas da raça Jersey, nas mesmas condições, apresentavam para essa fração proporções de 60 a 65%.

A α -lactoalbumina do leite de ovelha e cabra, homóloga a da vaca, é uma metaloproteína contendo um átomo de Ca por molécula e é fisiologicamente importante na síntese da lactose, facilitando a produção e a secreção do leite. Os cátions divalentes dos ligamentos da α -lactoalbumina (Ca^{2++} , Zn^{2++}) facilitam a absorção de minerais essenciais. Também fornece uma fonte bem equilibrada de aminoácidos essenciais para o crescimento dos neonatos. Durante sua digestão, seus peptídeos com propriedades antibacterianas e imunoestimulatórias, auxiliam na proteção contra infecções (PARK, 2007; STĂNCIUC e RĂPEANU, 2010).

Diante disto, pode ser percebido que além da função na imunidade neonatal, o colostro é importante fonte de proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e sais minerais. Trata-se de elementos que participam da nutrição e regulação térmica do recém-nascido. Assim, assegurar a ingestão precoce, e em quantidades adequadas de um colostro de boa qualidade, continua sendo a ferramenta de manejo mais importante para a sobrevivência e saúde dos neonatos ruminantes (FONTES et al., 2007).

4 – REFERÊNCIAS

ABOU-ZEINA, H.A.A.; ZAGHAWA, A.A.; NASR, S.M.; KESHTA, H.G.E. Effects of dietary cobalt deficiency on performance, blood and rumen metabolites and liver pathology in sheep. **Global Veterinaria**, v.2, n.4, 182-191, 2008.

ADAMSKI, M.; KUPCZYŃSKI, R.; CHLADEK, G.; FALTA, D. Influence of propylene glycol and glycerin in Simmental cows in periparturient period on milk yield and metabolic changes. **Archiv für Tierernährung und Tierzucht**, v.54, n.3, p.238-248, 2011.

AFONSO, J.A.B. Toxemia da prenhez. **Jornal do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Pernambuco: Veterinária e Zootecnia**, CRMV-PE. v. 26, p.7, 2006.

ALDRIDG, B.; GARRY, F.; ADAMS, R. Role of colostral transfer in neonatal calf management: failure of acquisition of passive immunity. **Compendium and Continuing Education for the Practising Veterinary**, v.14, p.265-270, 1992.

ALSEMGEEST, S.P.M.; TAVERNE, M.A.M.; BOOSMAN, R.; WEYDEN, B.C. van der, GRUYS, E. Peripartum acute-phase protein serum amyloid-A concentration in plasma of cows and fetuses. **American Journal of Veterinary Research**, v.54, n.1, p.164-167, 1993.

ANDREWS, D.A.; REAGAN, W.J.; DeNICOLA, D.B. Plasma fibrinogen in recognizing equine inflammatory disease. **Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.16, n.10, p.1349-1357, 1994.

ARAÚJO, C.A.S.C. **Estudo comparativo do perfil metabólico e hormonal de ovelhas com gestação única, gemelar e não gestantes alimentadas com dieta de alta densidade energética**. 2009. 212f. Dissertação (Clínica Médica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – São Paulo.

ARTHINGTON, J.D.; EICHER, S.D.; KUNKLE, W.E.; MARTIN, F.G. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v.81, p.1120-1125, 2003.

AZAB, M.E.; ABDEL-MAKSoud, H.A. Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. **Small Ruminant Research**, v.34, p.77-85, 1999.

AZIB, D.M.; TAHA, M.B. Effect of dystocias on serum haptoglobin in Awassi ewes. **Theriogenology**, v.48, p.559-562, 1997.

BARANOWSKI, P.; BARANOWSKI, S.B.; KLATA, W. Selected blood and bone biochemical values in single and twin lambs Born in autumn and spring. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v.43, p.191-196, 1999.

BASTOS, B.L. **Cinética das proteínas de fase aguda durante a gestação e pós-parto de ovelhas da raça Santa Inês como ferramenta auxiliar no monitoramento da saúde gestacional**. 2008. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos), Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Bahia.

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

BAUMGARTNER, W.; PERNTHANER, A. Influence of age, season and pregnancy upon blood parameters in Austrian Karakul sheep. **Small Ruminant Research**, v.13, n.2, p.147-151, 1994.

BERKOVA, N.; LEMAY, A.; DRESSER, D.W.; FONTAINE, J.; KERIZIT, J.; GOUPIL, S. Haptoglobin is present in human endometrium and shows elevated levels in the decidua during pregnancy. **Molecular Human Reproduction**, v.7, n.8, p.747-754, 2001.

BIRGEL JÚNIOR, E.H.; NEVES, F.S.; SALVATORE, L.C.A.; MIRANDOLA, R.M.S.; TÁVORA, J.P.F.; BIRGEL, E.H. Avaliação da influência da gestação e do puerpério sobre a função hepática de bovinos da raça Holandesa. **Ars Veterinaria**, v.19, n.2, p.172-178, 2003.

BIRGEL JÚNIOR E.H., VIANA R.B., AYRES M.C.C., BENESI F.J., GOMES V. & BIRGEL E.H. Influência da parição e do puerpério no leucograma de caprinos (*Capra hircus*) da raça Saanen, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.42, n. 5, p.347-356, 2005.

BLOM, A.K.; HOVE, K.; NEDKVITNE, J.J. Plasma insulin and growth hormone concentrations in pregnant sheep II: post-absorptive levels in mid- and late pregnancy. **Acta Endocrinologia**, v. 82, p.553-560, 1976.

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

BORGES, F.B. Uso de niacina na alimentação de vacas de alta produção, 2003. Disponível em: www.zootec.com.br/niacina.htm>. Acesso em 28 abr. 2007.

BRITO, M.A. Variação dos perfis metabólico, hematológico e lácteo em ovinos leiteiros na serra gaúcha. 2004. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.

BULLEN, J.J.; ROGERS, H.J.; GRIFFITHS, E. Role of iron in bacterial infection. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.80, 1-35, 1978.

BRUN-HANSEN, H.C.; KAMPEN, A.H.; LUND, A. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. **Veterinary Clinical Pathology**, v.35, n.2, p.182-187, 2006.

CAMPOS, A.G.S.S.; AFONSO, J.A.B.; SANTOS, R.A.; MENDONÇA, C.L. Uso do propileglicol, cobalto e vitamina B₁₂ em ovelhas e seus reflexos sobre o perfil eletroforético das proteínas séricas dos borregos. **Ciência Animal Brasileira**, supl.1, p.140-145, 2009.

CARDOSO, F.C.; LeBLANC, S.J.; MURPHY, M.R.; DRACKLEY, J.K. Prepartum nutritional strategy affects reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.9, p.5859-5871, 2010.

CARROL, E.J.; KANEKO, J.J. The clinical significance of serum protein fractionation by electrophoresis. **The California Veterinarian**, p.22-25, 1967.

CASTAÑEDA – GUTIÉRREZ, E.; PELTON, S.H.; GILBERT, R.O.; BUTLER, W.R. Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. **Animal Reproduction Science**, v.112(3-4), p.301-315, 2009.

CHALHOUB, M.; GENTILE, L.B., PRESTES, N.C.; LOPES, M.D.; LOPES, R.S. Perfil dos constituintes do sangue no puerpério imediato de ovelhas submetidas a cesariana eletiva e de ovelhas com parto normal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.5, p.440-443, 2000.

CHAN, J.P.; CHU, C.C.; FUNG, H.P.; CHUANG, S.T.; LIN, Y.C.; CHU, R.M.; LEE, S.L. Serum haptoglobin concentration in cattle. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.66, n.1, p.43-46, 2004.

CHARISMIADOU, M.A.; BIZELIS, J.A.; ROGDAKIS, E. Metabolic changes during the perinatal period in dairy sheep in relation to level of nutrition and breed. I late pregnancy. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.84, p.61-72, 2000.

CHEN, J. C.; CHANG, C.J.; PEH, H.C.; CHEN, S.Y. Total protein and γ -globulin contents of mammary secretion during early post-partum period of Nubian goats in the Taiwan area. **Small Ruminant Research**, v.31, p.67-73, 1998.

CHIBISA, G.E.; GOZHO, G.N.; VAN KESSEL, A.G.; OLKOWSKI, A.A.; MUTSVANGWA, T. Effects of peripartum propylene glycol supplementation on nitrogen metabolism, body composition, and gene expression for the major protein degradation pathways in skeletal muscle in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.9, p.3512-3527, 2008.

CHIOFALO, V.; D'AQUINO, S.; SCINARDO TENGHI, E.; SANZARELLO, L.; CHIOFALO, B.; PICCITTO, F.; CAVALLARO, M.; LIOTTA, L. Effect of peripartum propylene glycol supplementation on some biochemical parameters in dairy goats. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v.11, n.1, p.215-217, 2009.

CHIOFALO, V.; TODARO, M.; LIOTTA, L.; MARGIOTTA, S.; MANZO, T.; LETO, G. Effect of propylene glycol on pre- and postpartum performance by dairy ewes. **Small Ruminant Research**, v. 58, p.107–114, 2005.

CHUNG, Y.H.; BROWN, N.E.; MARTINEZ, C.M.; CASSIDY, T.W.; VARGA, G.A. Effects of rumen-protected choline and dry propylene glycol on feed intake and blood parameters for Holstein dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.6, p. 2729-2736, 2009.

CHUNG, Y.H.; GIRARD, I.D.; VARGA, G.A. Effects of feeding dry propylene glycol to early postpartum Holstein dairy cows on production and blood parameters. **Animal**, v.3, n.10, p. 1368-1377, 2009.

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

CONNER, J. G.; ECKERSALL, I.D.; WISEMAN, A.; AITCHISON, T. C.; DOUGLAS, T.A. Bovine acute phase response following turpentine injection. **Research in Veterinary Science**, v.44, p.82-88, 1988.

COSTA, J.N.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; AYRES, M.C.C.; FILHO, I.R.B. Fatores etários no leucograma de fêmeas zebuínas sadias da raça Nelore (*Bos Indicus*), **Ciência Rural**, v.30, n.3, p.399-403, 2000.

CSAPÓ, J.; CSAPÓ-KISS, Z.; MARTIN, T.G.; SZENTPETERI, J.; WOLF, G. Composition of colostrums from goats, ewes and cows producing twins. **International Dairy Journal**, p.445-458, 1994.

DAVID, C.M.G.; NORDI, E.C.P.; RUA, M.A.S.; PARREN, G.A.E.; PAZ, C.C.P.; CUNHA, E.A.; COSTA, R.L.D. Parâmetros hematológicos de ovelhas da raça Santa Inês no terço final da gestação. **Biológico**, v.73, n.2, p.268-271, 2011.

DENKO, C.W. Protective role of ceruloplasmin in inflammation. **Agents and Actions**, v.9, p. 333-336, 1979.

DINARELLO, C. Interleukin 1 and the pathogenesis of the acute phase protein. **The New England Journal of Medicine**, v.311, n.22, p.1413-1418, 1984.

DUNCAN, W.R.H.; MORRISON, E.R.; GARTON, G.A. Effects of cobalt deficiency in pregnant and pós-parturient ewes and their lambs. **British Journal of Nutrition**, v.46, p.337-344, 1981.

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

ECKERSALL, P.D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. Burlington: Academic Press, San Diego, 2008, cap.5, p. 117-155.

ECKERSALL, P.D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Médecine Vétérinaire**. v.151, n.7, p.577-584, 2000.

ECKERSALL, P.D.; DUTHIE, S.; SAFI, S.; MOFFATT, D.; HORADAGODA, N.U.; DOYLES, S.; PARTON, R.; BENNETT, D.; FITZPATRICK, J.L. An automated biochemical assay for haptoglobin: prevention of interference from albumin. **Comparative Hematology International**, v.9, 117-124, 1999.

ECKERSALL, P.D.; HARVEY, M.J.A.; FERGUSON, J.M.; RENTON, J.P.; NICKSON, D.A.; BOYD, J.S. Acute phase proteins in canine pregnancy (*Canis familiaris*). **Journal of Reproduction and Fertility**, suppl. 47, p. 159-164, 1993.

ECKERT, G.E.; GREENE, L.W.; CARSTENS, G.E.; RAMSEY, W.S. Copper status of ewes fed increasing amounts of copper sulfate or copper proteinate. **Journal of Animal Science**, v.77, p.244-249, 1999.

EL-SHERIF, M.M.A.; ASSAD, F. Changes in some blood constituents of Bark ewes during pregnancy and lactation under semi arid conditions. **Small Ruminant Research**, v.40, p.269-277, 2001.

ELSON, E.C. Quantitative determination of serum haptoglobin. **American Journal of Clinical Pathology**, v.62, p. 655-663, 1974.

ESTRELLA, S.L.G. **Características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. Influência da fase da lactação, dos quartos mamários, do número de lactações e do isolamento bacteriano**. 2001. 162f. Dissertação

(Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

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

FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hígidos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 559-586, 2002.

FAO. Breeding strategies for sustainable management of animal genetic resources. **FAO Animal Production and Health Guidelines**, n.3. FAO, Rome, 164p., 2010.

FARREL Jr., H.M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G.T.; BROWN, E.M.; BUTLER, J.E.; CREAMER, L.K.; HICKS, C.L.; HOLLAR, C.M.; Ng-Kwai-Hang, K.F.; SWAISGOOD, H.E. Nomenclature of the proteins of cows' milk-sixth revision. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1614-1674, 2004.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M de proteína total e suas frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de vacas holandesas antes e após o parto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.2, 2000. Disponível em: www.scielo.br Acesso em:02 dez. 2008.

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

FLAIBAN, K.K.M.C.; BALARIN, M.R.S.; RIBEIRO, E.L.A.; CASTRO, F.A.B.; MORI, R.M.; LISBÔA, J.A.N. Transferência de imunidade passiva em cordeiros cujas mães receberam dietas com diferentes níveis de energia ou proteína no terço final de gestação. **Ciência Animal Brasileira**, 1(Supl.), p.181-185, 2009.

FONSECA, L.F.L.; RODRIGUES, P.H.M.; SANTOS, M.V.; LIMA, A.P.; LUCCI, C.S. Supplementation of dairy cows with propylene glycol during the periparturient period: effects on body condition score, milk yield, first estrus post-partum, β -hydroxybutyrate, non-esterified fatty acids and glucose concentrations. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p. 897-903, 2004.

FONTES, F.A.P.V.; COELHO, S.G.; COSTA, T.C. Efeitos da nutrição no sistema imune e na resistência a doenças. **Revista Técnica da Bovinocultura de Leite**, Caderno especial, 1. Ed. Mar. 2007, 30p.

FOURNIER, T.; MEDJOUBI-N, N.; PORQUET, D. Alpha-1-acid glycoprotein. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1482, p.157-171, 2000.

FÜRLI, M.; DENIZ, A.; WESTPHAL, B.; ILLING, C.; CONSTABLE, P.D. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.4155-4164, 2010.

FURMANSKI, P.; LI, Z.P.; FORTUNA, M.B.; SWAMY, C.V.; DAS, M.R. Multiple molecular forms of human lactoferrin. Identification of a class of lactoferrins that possess ribonuclease activity and lack iron-binding capacity. **Journal of Experimental Medicine**, v.170, n.2, p.415-429, 1989.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **The New England Journal of Medicine**, v.340, n.6, p.448-454, 1999.

GONZÁLEZ, F.H.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J.J. Haptoglobina em ruminantes: generalidades y posibles aplicaciones clínicas. **Anales de Veterinaria Murcia**, v.23, p.5-13, 2007.

GORDON, A.H. **Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels**. New York: Elsevier Science Publishers, 1975, 213p.

GRANADOS, L.B.C.; DIAS, A.J.B.; SALES, M.P. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Rio de Janeiro, 2006.

GRUMMER, R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**. v.73, p. 2820-2833, 1995.

GRUMMER, R.R.; WINKLER, J.C.; BERTICS, S.J.; STUDER, V.A. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.12, p. 3618-3623, 1994.

GRUYS, E.; OBWOLO, M.J.; TOUSSANT, J.M. Diagnostic significance of the major acute phase protein in veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary Bulletin**, v.64, n.11, p.1009-1018, 1994.

GURSEL, F.E.; DURAK, M.H.; ALTINER, A. Serum ceruloplasmin levels in ewes fed deficient-energy during late pregnancy. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.9, n.4, p.820-825, 2010.

HILLER, R.M. The quantitative measurement of whey proteins using polyacrylamide-gel electrophoresis of milk. **Journal of Dairy Research**, v.43, p.259-265, 1976.

HIRVONEN, J.; HUSZENICZA, G.; KULCSÁR, M.; PYÖRÄLÄ. Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. **Theriogenology**, v.51, p.1071-1083, 1999.

HISS, S.; MIELENZ, M.; BRUCKMAIER, R. M.; SAUERWEIN, H. Haptoglobin concentrations in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary Hp mRNA expression. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3778-3784, 2004.

HOCHEPIED, T.; BERGER, F.G.; BAUMAN, H.; LIBERT, T. α 1-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. **Cytokine & Growth factors reviews**, New York, v.14, n. 1, p.25-34, 2003.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de pecuária municipal**, Rio de Janeiro, v.37, p.1-55, 2009.

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

JELINEK, P.; FRAIS, Z.; HELANOVA, I. Zakladni hematologicke hodnoty u beranu v prubehu odchovu. **Acta Universitatis Agriculturae**, v.3, p.117-125, 1984.

JÓHANNESSEN, T.; GUDMUNDSDÓTTIR, K.B.; BARASH, J.; KRISTINSSON, J.; EIRÍKSSON, T.; SIGURDARSON, S. Manganese, copper and copper enzymes in blood of Icelandic sheep: Relevance to scrapie. **Icelandic Agricultural Sciences**. v.18, 33-42, 2005.

JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.23, p.377-402, 2007.

JUCHEM, S.O.; SANTOS, F.A.P.; IMAIZUMI, H.; PIRES, A.V.; BARNABÉ, E.C. Production and blood parameters of Holstein cows treated prepartum with sodium monensin or propylene glycol. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.3, p.680-689, 2004.

JULIANO, R.S.; FIORAVANTI, M.C.S.; FAGLIARI, J.J.; SILVA, P.C.; SILVA, L.A.F. Proteinograma sérico de bovinos da raça Curraleiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.533-538, 2009.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: -____ **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, 1989, cap.6, p.142-65.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 932p, 1997.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6^a ed. New York: Academic Press. 2008. p.45-80.

KATO, K.; MORI, K.; KATOH, N. Different protein patterns in normal and mastitic milks as revealed by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **Journal of Veterinary Science**, v.51, n.6, p.1275-1278, 1989.

KEAY, G.; DOXEY, D.L. Species characteristics of serum proteins demonstrated after agarose gel electrophoresis. **Veterinary Research Communications**., n.5, p.263-270, 1982.

KENT, J.P. Birth sex ratios in sheep over six lambing seasons. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.30. p.151-155, 1992.

KEHOE, S.I.; JAYARAO, B.M.; HEINRICHS, A.J. A survey of bovine colostrums composition and colostrums management practices on Pennsylvania dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.9, p.4108-4116, 2007.

KINCAID, R.L.; WHITE, C.L. The effects of ammonium tetrathiomolybdate intake of tissue copper and molybdenum in pregnant ewes and lambs. **Journal of Animal Science**, v.66, p.3252-3258, 1988.

KRAJNICA KOVA, M.; BEKEOVA, E.; KACMARIK, J.; VALOCKY, I.; HENDRICHOVSKY, V.; MARACEK, I. Comparison of selected hematological parameters in September and February lambing of Slovak Merino sheep. **Small Ruminant Research**, v.26, p.131-135, 1997.

KUME, S.; TANABE, S. Effect of parity on colostrum mineral concentrations of Holstein cows and value of colostrums as a mineral source for newborn calves. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.6, p.1654-1660, 1993.

KUSHNER, I. Regulation of the acute phase response by cytokines. **Perspectives in Biology and Medicine**, v.36, n.4, p.611-622, 1993.

LARSON, B.L. Biosynthesis and secretion of milk proteins: a review. **Journal of Dairy Research**, v.46, p.161-174, 1979.

LARSON, B.L.; KENDALL, K.A. Protein production in the bovine: daily production of the specific milk proteins during the lactation period. **Journal of Dairy Science**, v. 40, n.3, p.377-386, 1957.

LAVEN, R.A.; LIVESEY, C.T. An evaluation of the effect of clotting on the relationship between copper and caeruloplasmin in bovine blood. **The Veterinary Journal**, v.174, p.400-402, 2007.

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

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. In: **Principles of Biochemistry**. 2nd ed. Worth publishers, New York. 1993. p.400-787.

LEMOS, V.F. **Proteinograma do soro sanguíneo e lácteo de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação.** 2011. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

LEVIEUX, D.; OLLIER, A. Bovine immunoglobulin G, β -lactoglobulin, α -lactalbumin and serum albumin in colostrums and milk during the early post partum period. **Journal of Dairy Research**, v.66, p.421-430, 1999.

LIEN, T.F.; CHANG, L.B.; HORNG, Y.M.; WU, C.P. Effects of propylene glycol on milk production, serum metabolites and reproductive performance during the transition period of dairy cows. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v.23, n.3, p.372-378, 2010.

McART, J.A.A.; NYDAM, D.V.; OSPINA, P.A.; OETZEL, G.R. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.12, p.6011-6020, 2011.

MARSTON, H.R. The requirement of sheep for cobalt or for vitamin B₁₂. **British Journal Nutrition**, v.24, p.615-633, 1970.

MATOS, J.R. **Proteínas de fase aguda em borregos e em ovelhas nos períodos de pré-parto e lactação.** 2005. 56f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical) – Universidade Federal da Bahia, Salvador.

MAUNSELL, F.P.; MORIN, D.E.; CONSTABLE, P.D.; HURLEY, W.L.; McCOY, G.C.; KAKOMA, I.; ISAACSON, R.E. Effects of mastitis on the volume and composition of colostrums produced by Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.5, p.1291-1299, 1998.

MAVROGIANNI, V.S.; BROZOS, C. Reflections on the causes and diagnosis of peri-parturient losses of ewes. **Small Ruminant Research**, v. 76, p.77-82, 2008.

MAZZAFERRO, E.M.; RUDLOFF, E.; KIRBY, R. The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio-Tex, v.12, n.2, p.113-124, 2002.

MELLOR, D.J.; FLINT, D.J.; VERNON, R.G.; FORSYTH, I.A. Relationships between plasma hormone concentrations, udder development and the production of early mammary secretions in twin-bearing ewes on different planes of nutrition. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, v.72, p.345-356, 1987.

MELLOR, D.J.; MURRAY, L. Making the most of colostrums at lambing. **The Veterinary Record**, v.118, p. 351-353, 1986.

MENDES, R.S.; SILVA, A.M.A.; SILVA, G.L.S.; NÓBREGA, G.H.; LÔBO, K.M.; FILHO, J.M.P. Exigência líquida de zinco, cobre e ferro para cordeiros em pastejo no semiárido. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.32, n.3, 279-284, 2010.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. Medicina de Laboratório Veterinária. 1ed. São Paulo: Roca, 1995. p.23-36.

MOALLEM, U.; KATZ, M.; ARIELI, A.; LEHRER, H. Effects of peripartum propylene glycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p. 3846-3856, 2007.

MONTEIRO, A.L.G.; OTTO DE SÁ, C.O. **Trabalhador na ovinocultura de corte**: manual do instrutor. Curitiba: Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – PR, 2004 (Manual Técnico).

MORAIS, O.R. Melhoramento genético dos ovinos no Brasil: situação e perspectivas. In: **III Simpósio Nacional de Melhoramento Animal**, FEPMVZ, Belo Horizonte, p.266-272, 2000.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, v.168, p.28-40, 2004.

NAAVARRE, C.B.; PUGH, D.G. Diseases of gastrointestinal system. In: PUGH, D.G. **Sheep and goat medicine**, Saunders, Philadelphia, 2002.

NETO, J.B.P. **Hemogramas de bovinos (*Bos Taurus*) sadios da raça Curraleiro de diferentes idade, machos e fêmeas, gestantes e não gestantes.** 2004. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiás.

NIELSEN, N.I.; INGVARTSEN, K.L. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. **Animal Feed Science and Technology**, v.115, p.191-213, 2004.

NØRGAARD, J.V.; NIELSEN, M.O.; THEIL, P.K.; SØRENSEN, M.T.; SAFAYI, S.; SEJRSEN, K. Development of mammary glands of fat sheep submitted to restricted feeding during late pregnancy. **Small Ruminant Research**, v.76, p.155-165, 2008.

NUNES, A.B.V. **Estudo da transmissão da imunidade passiva e da mortalidade em cordeiros mestiços de Santa Inês, na região Norte de Minas Gerais.** 2006. 83f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

OLIVEIRA, J. J. **A solução é apalpar o úbere da Santa Inês.** O Berro, 2000. Disponível em: <http://www.zebus.com.br/zootecnia3_40_berro.htm>. Acesso em: 20 out. 2002.

ONTSOUKA, C.E.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Fractionized Milk composition during removal of colostrums and mature milk. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.6, p.2005-2011, 2003.

ÖSTENSSON, K. Variations during lactation in total and differential leukocyte counts, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, antitrypsin and serum albumin in foremilk and residual milk from non-infected quarters in the bovine. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.34, n.1, p.83-93, 1993.

PARK, Y.W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v.68, p.88-113, 2007.

PATEL, B.N.; DUNN, R.J.; JEONG, S.Y.; ZHU, Q.; JULIEN, J.P.; DAVID, S. Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. **The Journal of Neuroscience**, v.22, p. 6578-6586, 2002.

PATEL, R.K.; KRISHNA, M.S.; KALPESH, J.S.; JENABHAI, B.C.; KROTHAPALLI, R.S.S.R. Low incidence of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) carriers in Indian cattle and buffalo breeds. **Journal of Applied Genetics**, v.48, p.153-155, 2007.

PATTINSON, S. E.; THOMAS, E. W. The effect of sire breed on colostrum production of crossbred ewes. **Livestock Production Science**, v.86, p.47-53, 2004.

PEREIRA, R.A.; FENSTERSEIFER, S.; BARCELOS, V.B.; MARTINS, C.F.; SCHNEIDER, A.; SCHMITT, E.; PFEIFER, L.F.M.; PINO, F.A.B.D.; CORRÊA, M.N. Metabolic parameters and dry matter intake of ewes treated with butaphosphan and cyanocobalamin in the early postpartum period. **Small Ruminant Research**, v.114, p.140-145, 2013.

PETERSEN, H.H.; NIELSEN, J.P.; HEEGAARD, P.M.H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, v.35, p.163-187, 2004.

PICKETT, M.M.; PIEPENBRINK, M.S.; OVERTON, T.R. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2113-2121, 2003.

PIERAGOSTINI, E.; PETAZZI, F.; RUBINO, G.; RULLO, R.; SASANELLI, M. Switching emoglobinico, quadro ematologico e primo incontro con i parassiti endoeritrocitari enzootici in agnelli autoctoni pugliesi. **Obiettivi & Documenti Veterinari**, n.7/8, p.31-40, 2000.

POLONOVSKI, M.; JAYLE, F.M. Preparation of a new fraction of the plasma proteins, haptoglobin. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v.211, p.517-519, 1940.

REGASSA, F.; NOAKES, D.E. Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. **Veterinary Record**, v.144, p.502-506, 1999.

REGASSA, F.; SHELDON, I. M.; NOAKES, D.E. Effect of experimentally induced metritis on uterine involution, acute phase protein response and PGFM secretion in the postpartum ewe. **Veterinary Record**, v.150, p.605-607, 2002.

RIBEIRO, L.A.O.; MATTOS, R.C.; GONZALEZ, F.H.D.; WALD, V.B.; SILVA, M.A.; ROSA, V.L. Perfil metabólico de ovelhas Border Leicester x Texel durante a gestação e a lactação. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.99, n.551, 155-159, 2004.

RINGLER, D.J. Inflamação e reparo. In: JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6ed. São Paulo. 1997. p.119-149.

RINGS, M. Therapeutic considerations in ketosis and hepatic lipidosis in cattle. **Modern Veterinary Practice**. p.523-526, 1985.

ROCHA, T.G.; FRANCIOSI, C.; NOCITI, R.P.; SILVA, P.C.; SAMPAIO, A.A.M.; FAGLIARI, J.J. Eletroforetograma das proteínas do soro lácteo de vacas Canchim primíparas e pluríparas. **Ciência Animal Brasileira**, suppl. 1, 2009. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. 220-225p.

RODRIGUES, C.A.F.; RODRIGUES, M.T.; BRANCO, R.H.; CARVALHO, G.R.; TORRES, R.A.; TORRES FILHO, R.A. Avaliação do consumo e de metabólitos plasmáticos de cabras gestantes com duas condições corporais alimentadas com dietas formuladas com diferentes níveis de energia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.945-952, 2007.

RODRIGUES, C.A.F.; RODRIGUES, M.T.; BRANCO, R.H.; QUEIROZ, A.C.; ARAÚJO, C.V. Influência da condição corporal e da concentração de energia nas dietas no periparto sobre o desempenho de cabras em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1560-1567, 2006.

ROMBACH, E.P.; BARBOZA, P.S.; BLAKE, J.E. Costs of gestation in an Arctic ruminant: copper reserves in muskoxen. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.134, p.157-168, 2003.

RUDNIK, L. Imunologia molecular. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, 1º semestre de 2001. 19p. Disponível em: <[www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/imunologia .pdf](http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/imunologia.pdf)>. Acesso em: 14 dez. 2008.

RUEG, P.L.; MILTON, R.L. Body condition score of holstein cow on Prince Edward Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance, and disease. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.552-564, 1995.

RUSSEL, A.J.F. 1991. Nutrition of pregnant ewe. In: **Sheep and goat practice** London:Baillière Tindall. p.29-39.

SANTOS, V.T. Parâmetros reprodutivos de ovelhas Santa Inês e suas cruzas com machos das raças Dorper e Somalis brasileira, obtidas por inseminação artificial laparoscópica com sêmen congelado In: **Ovinocultura: princípios básicos para sua instalação e exploração**. São Paulo: Nobel, 2ªed. 1986, 167p.

SAUT, J.P.E.; SOUZA, R.M.; BIRGEL, D.B.; POGLIANI, F.C.; CAVALCANTE, C.Z.; MIYASHIRO, S.I.; FAGLIARI, J.J.; JÚNIOR, E.H.B. Influência do puerpério sobre o proteinograma sérico de caprinos da raça Saanen obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.3, p.661-670, 2009.

SCHALM, O.W.; CARROLL, E.J, JAIN, N.C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971, 360p.

SCHANBACHER, F.L.; LARRY SMITH, K. Formation and role of unusual whey proteins and enzymes: relation to mammary function. **Journal of Dairy Science**, v.58, n.7, p.1048-1062, 1974.

SCHOSINSKY, K.H.; LEHMANN, H.P.; BEELER, M.F. Measurement of ceruloplasmin from its oxidase activity in serum by use of o-dianisidine dihydrochloride. **Clinical Chemistry**, 20/12, p.1556-1563, 1974.

SCOTT, P. R.; MURRAY, L. D.; PENNY, C. D. A preliminary study of serum haptoglobin concentration as a prognostic indicator of ovine dystocia cases. Short communication. **British Veterinary Journal**, v.148, p.351-355, 1992.

SENTHILKUMAR, P.; NAGALAKSHMI, D.; RAMANA REDDY, Y.; SUDHAKAR, K. Effect of different level and source of copper supplementation on immune response and copper dependent enzyme activity in lambs. **Tropical Animal Health Production**, v.41, p. 645-653, 2009.

SHELDON, M.; NOAKES, D.E.; RYCROFT, A.N.; DOBSON, H. Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle calving. **Veterinary Record**, v.148, n.6, p.172-175, 2001.

SHELDON, M.; NOAKES, D.E.; RYCROFT, A.N.; DOBSON, H. The effect of intrauterine administration of estradiol on postpartum uterine involution in cattle. **Theriogenology**, v.59, p.1357-1371, 2003.

SHERMAN, A.R. Zinc, copper and iron nutriture and immunity. **The Journal of Nutrition**, v.122, suppl. 3, p.604-608, 1992.

SILVA, S.L. **Constituintes séricos e hematológicos de caprinos neonatos alimentados com colostros de cabras ou de vacas**. 2005. 68f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

SKINNER, J.G. International standardization of acute phase proteins. **Veterinary Clinical Pathology**, v.30, n.1, 2-7, 2001.

SKINNER, J.G.; BROWN, R.A.; ROBERTS, L. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. **Veterinary Record**, v.128, p. 147-149, 1991.

SKINNER, J.G.; ROBERTS, L. Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. **The Veterinary Record**, v.134, 33-36, 1994.

SOCH, M.; BROUCEK, J.; SREJBEROVÁ, P. Hematology and blood microelements of sheep in south Bohemia. **Biologia**, v.66, n.1, 181-186, 2011.

STÂNCIUC, N.; RÂPEANU, G. An overview of bovine α -lactalbumin structure and functionality. **Food Technology**, v.34, n.2, 2010.

STANGL, G.I.; SCHWARZ, F.J.; MÜLLER, H.; KIRCHGESSNER, M. Evaluation of the cobalt requirement of beef cattle based on vitamin B12, folate, homocysteine and methylmalonic acid. **British Journal of Nutrition**, v.84, p.645-653, 2000.

STELWAGEN, K.; CARPENTER, E.; HAIGH, B.; HODGKINSON, A.; WHEELER, T.T. Immune components of bovine colostrums and milk. **Journal of Animal Science**. v.87, supl. 1, p.3-9, 2009.

STUDER, V.A.; GRUMMER, R.R.; BERTICS, S.J.; REYNOLDS, C.K. Effect of parturition propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.10, p.2931-2939, 1993.

SUSIN, I. **Exigências nutricionais de ovinos e estratégias de alimentação**. In: SILVA SOBRINHO, A.G. (Ed.). Nutrição de ovinos. Jaboticabal: Funep/Unesp – FCAJ, 1996, p.119-142.

THOMAS, J.S. Overview of Plasma Proteins. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**, 5ªed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, cap.134, p. 891-898, 2000.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária – uma introdução**. 6 ed. São Paulo:Roca, 2002, p.532.

ULLREY, D.E.; MILLER, E.R.; LONG, C.H.; VINCENT, B.H. Sheep hematology from birth to maturity I. erythrocyte population, size and hemoglobin concentration. **Journal of Animal Science**, v.24, p.135-140, 1965.

ULLREY, D.E.; MILLER, E.R.; LONG, C.H.; VINCENT, B.H. Sheep hematology from birth to maturity II. Leukocyte concentration and differential distribution. **Journal of Animal Science**, v.24, p. 141-144, 1965.

UPCOTT, D.H.; HEBERT, C.N.; ROBINS, M. Erythrocyte and leukocyte parameters in newborn lambs. **Research in Veterinary Science**, v.12, p. 474-477, 1971.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. Leche y productos lácteos. Série 1 Alimentos Básicos. Editorial Acribia: Zaragoza, p.476, 1995.

VERDURICO, L.C. **Avaliação de búfalas da raça Mediterrâneo durante o período de transição e início de lactação e de bezerras lactantes até o desmame**. 2010. 117f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

VIANA, J.G.A. Panorama geral da Ovinocultura no mundo e no Brasil. Revista Ovinos, ano 4, n.12, 2008. Disponível no site: www.almanaquedocampo.com.br

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. Iowa: Willey Blackwell, 2010, 1232p.

WHEELER, T.T.; HODGKINSON, A.J.; PROSSER, C.G.; DAVIS, S.R. Immune components of colostrum and milk – a historical perspective. **Journal of Mammary Gland Biology Neoplasia**, v.12, p.237-247, 2007.

5 – APRESENTAÇÃO DA PROPOSTA

O presente trabalho está composto por três artigos que versam sobre a influência da administração de propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ sobre o hemograma e proteinograma de ovelhas da raça Santa Inês no periparto e de suas respectivas crias. Alguns trabalhos nacionais e estrangeiros descrevem os benefícios da utilização do propileno glicol e do cobalto associado à vitamina B₁₂, como medida preventiva, na tentativa de minimizar o impacto econômico que os distúrbios metabólicos causam neste período. No entanto, existia uma lacuna a ser preenchida no que diz respeito à repercussão sistêmica quanto ao uso desses suplementos na espécie ovina, particularmente relacionado aos aspectos hematológicos e do proteinograma do soro sanguíneo e do colostro de ovelhas no período de transição de ovelhas e de suas respectivas crias.

O primeiro artigo avalia o hemograma e as proteínas de fase aguda de ovelhas submetidas à suplementação com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação. O segundo avalia as proteínas do soro colostrar identificadas no perfil eletroforético de ovelhas submetidas à suplementação citada, no final da gestação e o terceiro artigo avalia o hemograma e o proteinograma dos cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação.

Com os resultados alcançados, foram obtidos volume substancial de informações, tornando disponíveis dados referenciais voltados à principal raça ovina criada no Nordeste brasileiro em condições de manejo diferentes das citadas em muitos artigos científicos, estimulando dessa forma a continuidade de mais estudos relacionados à utilização destes suplementos nesta espécie.

6-ARTIGOS CIENTÍFICOS
6.1- ARTIGO 1

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROPILENO GLICOL E COBALTO ASSOCIADO À VITAMINA B₁₂ NOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E NO PROTEINOGRAMA DE OVELHAS SANTA INÊS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar durante o período de transição os parâmetros hematológicos e o proteinograma do soro sanguíneo de ovelhas suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂. Dezoito ovelhas prenhes foram distribuídas aleatoriamente, aos 30 dias antes do parto, em três grupos e administrados os suplementos conforme a seguir: (G1/n=6) grupo que recebeu propileno glicol (30mL por via oral diariamente); (G2/n=6) grupo que recebeu cobalto (1mg de cloreto de cobalto a 1%, via oral diariamente) associado a vitamina B₁₂ (2mg via intramuscular, semanalmente) e (G3/n=6) grupo controle. Foram estabelecidos oito momentos experimentais, 30 dias antes do parto (DAP), uma semana antes do parto (AP), momento do parto, 24hPP, 72hPP, 05dsPP, 15dsPP e 30dsPP. Empregou-se a técnica de eletroforese em gel de poliácridamida para a determinação qualitativa e quantitativa das proteínas do soro sanguíneo. A suplementação com cobalto associado à vitamina B₁₂ resultou na elevação das variáveis eritrocitárias das ovelhas durante o período de transição, assim como a administração de ambos os suplementos em maiores concentrações séricas de imunoglobulina G. Dentre as proteínas de fase aguda, a α 1-glicoproteína ácida foi a mais sensível, se elevando como consequência do parto.

Palavras-chave: eletroforese em gel de poliácridamida, hemograma, periparto, proteínas, suplementos.

INFLUENCE OF SUPPLEMENTATION WITH PROPYLENE GLYCOL AND COBALT ASSOCIATED WITH VITAMIN B₁₂ ON HEMATOLOGICAL PARAMETERS AND PROTEINOGRAM OF SANTA INÊS EWES DURING THEIR TRANSITION PERIOD

ABSTRACT

This work aimed to evaluate, during their transition period, the hematologic components and proteinogram of proteins in blood serum of ewes, supplemented with propylene glycol and cobalt associated with vitamin B₁₂. Eighteen pregnant ewes were separated randomly, 30 days before lambing, into three groups and administered supplements, as follows: (G1/n=6), which received propylene glycol (30ml daily oral dosage); (G2/n = 6) which received cobalt (1mg of cobalt chloride in 1% solution, daily oral dosage) associated with vitamin B₁₂ (2mg of vitamin B₁₂ intramuscular way, weekly) and (G3/n = 6) control group. Were established eight experimental moments, 30 days before the expected date of lambing (DAP), a week before lambing (AP), at the time of lambing and later at 24h, 72h, 05dsPP, 15 ddsPP and 30dsPP. The technique of electrophoresis on polyacrylamide gel was employed for the qualitative and quantitative determination of proteins of blood serum. Supplementation with cobalt associated with vitamin B₁₂ resulted in the elevation of the erythrocyte variables of sheep during the transition period, as well as administration of both supplements in higher serum concentrations of immunoglobulin G. Among the acute phase proteins, the α 1-acid glycoprotein was the most sensitive among other identified rising as a result of lambing.

Key-words: SDS-PAGE, hemogram, peripartum, proteins, supplements.

INTRODUÇÃO

O período conhecido como de transição, que compreende as três semanas que precedem o

parto e as três seguintes, é marcado por mudanças expressivas nas ovelhas, caracterizada por alterações hormonais e conseqüentemente metabólicas, em que o organismo da fêmea se prepara para o parto e o início da lactação. Tais alterações podem desencadear diferentes transtornos de ordem metabólica, advindo de um maior aporte energético para atender às demandas elevadas de nutrientes requeridas na fase final do crescimento fetal, no desenvolvimento mamário, na formação do colostro e na produção de leite (GRUMMER, 1995; EL SHERIF & ASSAD, 2001).

Para satisfazer às exigências energéticas e proteicas no período em que há redução no consumo de alimento, principalmente pelo aumentado volume do útero gestante, ocorre a mobilização das reservas corporais. Esta mobilização vai acarretar alterações, traduzidas em transtornos endócrinos e conseqüentemente metabólicos, gerando impacto econômico na criação (GRUMMER, 1995; RUEG & MILTON, 1995). Como forma de minimizar esses prejuízos, a suplementação com propileno glicol, cobalto e vitaminas do complexo B, têm ajudado na obtenção do melhor desempenho produtivo do rebanho, interferindo no processo de mobilização das reservas energéticas e de gordura (CHIOFALO et al., 2005). O cobalto é um importante microelemento usado pela microflora do rúmen para a síntese de vitamina B₁₂, que é absorvida no intestino delgado e estocada no fígado. A vitamina B₁₂, por sua vez, é uma coenzima essencial no metabolismo do ácido propiônico (maior precursor na formação de energia nos ruminantes), na gliconeogênese e na geração de energia (DUNCAN et al., 1981; BORGES 2003; AFONSO, 2006), juntamente com o propileno glicol que possui a vantagem de ser rapidamente metabolizado no rúmen pela via fermentativa, por absorção ou passando diretamente para o intestino (NIELSEN & INGVARTSEN, 2004).

A repercussão sistêmica, como as conseqüências hematológicas e sobre o proteinograma resultante da administração destes suplementos ainda é pouco documentada na ovelha, quando comparado à vaca. Este estudo teve por objetivo avaliar durante o período de transição os parâmetros hematológicos e o perfil eletroforético das proteínas do soro sanguíneo de ovelhas suplementadas, aos 30 dias antes do parto, com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 ovelhas gestantes da raça Santa Inês, primíparas (n=7) e múltiparas (n=11), com idade variando entre 18 meses a cinco anos, pesando aproximadamente 40kg e escore corporal de 3,0 a 3,5 (RUSSEL, 1991) mantidas em aprisco de experimentação. A alimentação dos animais era constituída de capim elefante (*Pennisetum purpureum*), tifton (*Cynodom sp.*), aproximadamente 400g/animal/dia de concentrado (40% farelo de soja, 56,6% milho triturado, 2,8% fosfato bicálcico e 0,6% sal comum), sal mineral (Ovinofós®, Tortuga Companhia Zootécnica

Agrária) e água *ad libitum*. As ovelhas foram vermifugadas (moxidectina 0,2%, Cydectin oral, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Division of Wyeth) e vacinadas (Covexin 9®, Coopers Brasil Ltda).

Aproximadamente 30 dias antes da data prevista para o parto, as ovelhas foram distribuídas, por amostragem probabilística, em três grupos e suplementadas, conforme a seguir: Grupo 1 (G1/n=6): 30mL de propileno glicol P.A. (Propileno glicol P.A., Vetec Química Fina Ltda) via oral diariamente (PEARSON & MASS, 2002); Grupo 2 (G2/n=6): 1mg de cloreto de cobalto em solução a 1% via oral diariamente e 2mg de vitamina B₁₂ (Monovin B₁₂ Lab. Bravet Ltda) via intramuscular semanalmente (NRC, 1985) e Grupo 3 (G3/n=6): grupo controle.

As ovelhas foram acompanhadas diariamente durante o experimento (DIFFAY et al., 2004). O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transabdominal empregando transdutor convexo de 3,5 MHz (Ultrasom GE, modelo Logic 100 PRO), observando-se gestação gemelar em sete ovelhas, sendo duas nos grupos propileno glicol e controle, respectivamente, e três no grupo cobalto associado à vitamina B₁₂.

Foram estabelecidos oito momentos experimentais, conforme a seguir: 30 dias antes da data prevista para o parto (30DAP), aproximadamente uma semana que antecedia o parto (AP anteparto), no momento do parto (parto) e posteriormente às 24 horas (24hPP), 72 horas (72hPP), cinco dias (5 diasPP), 15 dias (15 diasPP) e 30 dias (30 diasPP) após o parto.

As amostras de sangue foram colhidas mediante punção da veia jugular com agulha 25x8mm, adequadas para tubos à vácuo, com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético, sal dissódico) a 10% para a realização do hemograma e determinação do fibrinogênio plasmático e sem anticoagulante, para a obtenção do soro, para realização do proteinograma. Os soros livres de hemólise foram aliquotados em tubos de polietileno tipo *Eppendorf* e mantidos em ultrafreezer (-80°C) (Ultralow freezer NuAire Inc.).

O hemograma e a determinação do fibrinogênio plasmático foram realizados seguindo as recomendações de JAIN (1986), empregando-se os critérios relacionados à espécie ovina. A concentração da proteína total no soro sanguíneo foi determinada pelo método colorimétrico de ponto final por reação do biureto (Labtest Diagnóstica S.A). A separação das proteínas foi realizada utilizando-se a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), utilizando o sistema vertical de eletroforese, conforme descrito por LAEMMLI (1970) e FAGLIARI & SILVA (2002). Para a identificação das frações proteicas foi empregada, como referência, solução marcadora (Sigma-Aldrich Corporation 3050 Spruce Street. St. Louis MO 63103, Missouri, USA) com pesos moleculares variando de 6.500 a 200.000 Daltons (Da), além das proteínas purificadas albumina, imunoglobulina IgG, haptoglobina, α 1-antitripsina e transferrina. Após o fracionamento o gel foi corado durante dez minutos em solução de azul de Coomassie, constituída de metanol (50%), água (40%), ácido acético glacial (9,75%) e azul de Coomassie

(0,25%). Em seguida o gel foi colocado em solução de ácido acético a 7% para retirada do excesso de corante, até que as frações proteicas se apresentassem nítidas. A determinação das concentrações proteicas foi obtida por meio de densitômetro computadorizado (Shimadzu CS 9301, Japan).

Os dados foram organizados por medidas de tendência central (média e desvio-padrão) e submetidos à análise de variância (Teste F) que separou, como causa de variação, os efeitos de grupos, de momentos e suas interações. Nos casos em que houve significância no teste F, as médias dos fatores foram comparadas pelo Teste de Student-Newmn-Keuls (SNK). As variáveis hematimétricas: eosinófilos e monócitos foram submetidas à transformação radicial de $x+1$. Em relação ao proteinograma, as proteínas IgA e cerulolasmina foram submetidas a transformação logarítmica (Log10), por não ter atendido às premissa de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnof. Utilizou-se, para análise dos dados, o programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2009), empregando o procedimento GLM (General Linear Model) do SAS. Para todas as análises estatísticas realizadas foi adotado o nível de significância (p) de 5%. O modelo utilizado para ANOVA foi o seguinte: $Y_{ij} = G + M + GM + E_{ij}$, onde: Y_{ij} = valor observado; G = efeito dos grupos; M = efeito dos momentos; GM = interação Grupos e Momentos; E_{ij} = erro.

O trabalho obteve parecer favorável da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFRPE de acordo com a resolução 269/2007 do CEPE/UFRPE, seguindo as normas sugeridas pelo COBEA e pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase final da gestação foi observada discreta diminuição do escore corporal (3,5 para 3,0) das ovelhas (RUSSEL, 1991), sendo mais evidente nos animais de maior faixa etária e nos que estavam gestando dois fetos, no entanto, sem apresentarem sinais de doença ou qualquer outra alteração física ou metabólica.

As fontes de variação, o valor de F da análise de variância e o nível de P das variáveis hematológicas podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Nível de significância ($P > F$) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao perfil hematológico das ovelhas suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação.

| Variáveis hematológicas | Fatores de variação ($P > F$) | | |
|-------------------------|---------------------------------|--------------|--------|
| | Grupos (G) | Momentos (M) | G x M |
| | sangue | | |
| Volume Globular | <0,0001 | 0,2923 | 0,3006 |
| Contagem de Hemácias | <0,0001 | 0,0597 | 0,1084 |
| Hemoglobina | <0,0001 | 0,2887 | 0,1255 |
| VCM | 0,2437 | 0,2173 | 0,4583 |
| CHCM | 0,4061 | 0,9455 | 0,3803 |
| Leucócitos Totais | 0,0024 | 0,3532 | 0,6453 |
| Linfócitos | <0,0001 | 0,0288 | 0,3646 |
| Bastonetes | 0,6615 | 0,3601 | 0,9531 |
| Eosinófilos | 0,4201 | 0,0070 | 0,8523 |
| Monócitos | 0,7519 | 0,0165 | 0,8423 |
| Basófilos | 0,5499 | 0,2970 | 0,5143 |
| Neutrófilos | 0,5630 | 0,0232 | 0,6141 |
| Fibrinogênio Plasmático | 0,9129 | 0,2214 | 0,6591 |

Na avaliação do eritrograma das ovelhas verificou-se diferença entre os três grupos estudados para as variáveis volume globular (VG) ($P < 0,0001$), contagem total de hemácias (He) ($P < 0,0001$) e concentração de hemoglobina (Hb) ($P < 0,0001$), entre os quais o grupo suplementado com cobalto associado à vitamina B₁₂ apresentou os maiores valores médios (Tabelas 1 e 2). Os valores médios superiores das variáveis que compõem o eritrograma no grupo suplementado com cobalto associado à vitamina B₁₂ podem ser justificados pelo fato do cobalto ser um dos constituintes essenciais da hemoglobina e a vitamina B₁₂ ajudar na maturação dos eritrócitos, sendo essenciais para a satisfatória eritropoiese (JAIN, 1993; ISLAM et al., 2005).

Tabela 2 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) do volume globular (%), da contagem de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) e da concentração de hemoglobina (g/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) observadas durante o período de transição.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | MG |
|--|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| | Volume Globular (%) | | | | | | | | |
| | 30 DAP | AP (anteparto) | Parto | 24hPP | 72hPP | 5diasPP | 15diasPP | 30diasPP | |
| G1 | 29,17 ± 4,49 | 25,67 ± 2,87 | 25,50 ± 3,11 | 24,00 ± 1,63 | 25,75 ± 1,71 | 24,75 ± 2,06 | 24,50 ± 3,32 | 28,75 ± 1,50 | 26,17 ^{b**} |
| G2 | 27,67 ± 3,45 | 28,50 ± 2,17 | 29,83 ± 3,25 | 28,50 ± 2,17 | 29,00 ± 2,00 | 30,83 ± 3,66 | 30,00 ± 3,34 | 30,17 ± 1,60 | 29,32 ^a |
| G3 | 28,00 ± 3,03 | 25,67 ± 2,50 | 27,00 ± 1,00 | 27,00 ± 1,00 | 27,33 ± 1,16 | 27,00 ± 1,00 | 27,00 ± 2,00 | 27,67 ± 3,05 | 27,03 ^b |
| MG | 28,28 ^{a*} | 26,61 ^a | 27,85 ^a | 26,77 ^a | 27,50 ^a | 28,08 ^a | 27,61 ^a | 29,15 ^a | |
| Contagem de Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| G1 | 9,62 ± 1,32 | 8,15 ± 0,66 | 8,27 ± 1,03 | 7,87 ± 0,68 | 8,54 ± 0,63 | 8,21 ± 0,73 | 8,12 ± 0,77 | 9,75 ± 0,54 | 8,60 ^{b**} |
| G2 | 8,84 ± 1,35 | 9,45 ± 0,58 | 9,70 ± 0,77 | 9,36 ± 0,92 | 9,48 ± 0,49 | 10,23 ± 1,30 | 9,63 ± 1,15 | 10,06 ± 0,39 | 9,60 ^a |
| G3 | 9,24 ± 0,90 | 8,35 ± 1,00 | 9,04 ± 0,22 | 9,01 ± 0,25 | 8,91 ± 0,52 | 9,07 ± 0,29 | 9,28 ± 0,79 | 9,33 ± 1,12 | 8,98 ^b |
| MG | 9,23 ^{a*} | 8,65 ^a | 9,11 ^a | 8,82 ^a | 9,02 ^a | 9,34 ^a | 9,09 ^a | 9,80 ^a | |
| Concentração de Hemoglobina (g/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 9,72 ± 1,40 | 8,40 ± 0,90 | 8,39 ± 1,14 | 7,83 ± 0,47 | 8,57 ± 0,65 | 8,17 ± 0,89 | 7,95 ± 1,00 | 9,50 ± 0,64 | 8,62 ^{b**} |
| G2 | 9,11 ± 1,14 | 9,36 ± 0,67 | 9,97 ± 1,15 | 9,49 ± 0,80 | 9,60 ± 0,57 | 10,18 ± 1,05 | 9,97 ± 0,99 | 9,93 ± 0,30 | 9,71 ^a |
| G3 | 9,14 ± 0,96 | 8,58 ± 0,83 | 8,91 ± 0,52 | 8,87 ± 0,60 | 9,15 ± 0,41 | 8,87 ± 0,21 | 8,90 ± 0,76 | 9,06 ± 0,61 | 8,92 ^b |
| MG | 9,32 ^{a*} | 8,78 ^a | 9,24 ^a | 8,84 ^a | 9,14 ^a | 9,26 ^a | 9,10 ^a | 9,60 ^a | |

* Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; ** Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças entre grupos.

Não foi verificada variação entre momentos para o VG ($P > 0,2923$), a He ($P > 0,0600$) e a Hb ($P > 0,2887$), no entanto chama-se atenção para o momento que antecedeu ao parto (AP) e o seguinte ao parto (24hPP), nos quais foram verificados os menores valores médios destas variáveis, que situaram-se no limite inferior ao considerado normal para a espécie ovina (BYERS & KRAMER, 2010). Os parâmetros das células vermelhas diminuem durante a gestação e permanecem baixos por umas poucas semanas após o parto, o qual pode ser interpretado como um efeito do aumento do volume plasmático que pode chegar a 23% nas ovelhas (JAIN, 1993). JACOB & VADODARIA (1994) atribuíram os níveis baixos de VG e Hb no pré-parto a demanda aumentada de ferro pelo feto, com o intuito de satisfazer todos os requerimentos, aliado a deficiência de cobre e ferro, tanto por deficiência nutricional quanto pela ação parasitária de vermes hematófagos, que pode ser observado em ovelhas com imunidade baixa no periparto, podendo acarretar redução na

concentração de hemoglobina e do VG, caracterizando uma anemia microcítica hipocrômica, fato não observado neste estudo (CUNNINGHAM, 1999; CIARLINI et al., 2002; OLIVEIRA, 2010).

Quanto ao VCM e CHCM, não foi observado efeito de grupo nem de momento (Tabela 1). Os valores médios destas variáveis mantiveram-se situados dentro da faixa de normalidade para espécie ovina (BYERS & KRAMER, 2010), caracterizando a normocitose e a normocromia.

Na análise do leucograma constatou-se na contagem total de leucócitos efeito de grupo (Tabela 1), verificando que no grupo suplementado com propileno glicol (G1) a média geral de 7530,6 leucócitos/ μL de sangue, foi inferior aos dos demais grupos (Tabela 3). Não foi observado efeito de momento ($P>0,3532$) para esta variável ao longo do período de observação (Tabela 1), apesar de verificar discreta elevação nos valores globais de leucócitos no momento do parto nos grupos G2 e G3 (Tabela 3). Vale salientar que apesar destas discretas alterações, os valores médios da contagem total de leucócitos ao longo de todo o período de experimentação, mantiveram-se dentro dos parâmetros normalidade para a espécie ovina (BYERS & KRAMER, 2010).

Tabela 3 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem total de leucócitos ($/\mu\text{L}$), da contagem absoluta de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$) e da contagem absoluta de linfócitos ($/\mu\text{L}$) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) observadas durante o período de transição.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | MG |
|--|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|
| | Leucócitos Totais ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | |
| | 30DAP | AP (ante parto) | Parto | 24hPP | 72hPP | 5diasPP | 15diasPP | 30diasPP | |
| G1 | 10116,67 $\pm 198,04$ | 8741,67 $\pm 3929,81$ | 6937,50 $\pm 856,71$ | 8062,50 $\pm 3280,34$ | 5537,50 $\pm 601,91$ | 5900,00 $\pm 348,81$ | 6250,00 $\pm 437,80$ | 6800,00 $\pm 946,04$ | 7530,6 ^{b**} |
| G2 | 8066,67 $\pm 2320,92$ | 9804,17 $\pm 2898,81$ | 11166,67 $\pm 3904,06$ | 10366,67 $\pm 3023,85$ | 9580,00 $\pm 2419,35$ | 9133,33 $\pm 1801,57$ | 8737,50 $\pm 2415,25$ | 9350,00 $\pm 3088,85$ | 9524,5 ^a |
| G3 | 9141,67 $\pm 1635,67$ | 10300,00 $\pm 2085,19$ | 11000,00 $\pm 2582,15$ | 10850,00 $\pm 1175,80$ | 8850,00 $\pm 901,39$ | 9216,67 $\pm 1484,36$ | 9300,00 $\pm 2925,32$ | 7900,00 $\pm 1293,25$ | 9600,0 ^a |
| MG | 9108 ^{a*} | 9615 ^a | 9827 ^a | 9769 ^a | 8050 ^a | 8158 ^a | 8102 ^a | 8231 ^a | |
| Neutrófilos Segmentados ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| G1 | 4932,83 $\pm 2698,81$ | 4441,33 $\pm 2076,92$ | 4993,25 $\pm 687,88$ | 6212,25 $\pm 3456,64$ | 3061,00 $\pm 777,19$ | 335,25 $\pm 419,28$ | 4003,00 $\pm 1393,60$ | 3601,50 $\pm 523,47$ | 4365,4 ^{b**} |
| G2 | 2666,33 $\pm 1178,59$ | 4139,50 $\pm 2397,31$ | 6943,83 $\pm 3559,70$ | 4941,33 $\pm 2224,81$ | 4454,20 $\pm 2339,63$ | 4227,00 $\pm 1053,74$ | 4481,00 $\pm 1778,18$ | 4253,00 $\pm 2086,68$ | 4514,5 ^a |
| G3 | 3921,83 $\pm 1027,40$ | 5881,33 $\pm 1545,58$ | 6192,33 $\pm 4085,70$ | 5630,00 $\pm 786,17$ | 5379,33 $\pm 1032,62$ | 4058,33 $\pm 485,26$ | 4780,67 $\pm 2680,45$ | 3247,67 $\pm 645,30$ | 4889,5 ^a |
| MG | 3840,3 ^{b*} | 4820,7 ^b | 6170,2 ^a | 5491,3 ^a | 4221 ^b | 3920,2 ^b | 4403,1 ^b | 3820,5 ^b | |
| Linfócitos ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| G1 | 4800,83 $\pm 3556,51$ | 4278,17 $\pm 2097,73$ | 1888,50 $\pm 1030,57$ | 1802,75 $\pm 525,59$ | 2406,75 $\pm 958,34$ | 2549,75 $\pm 270,84$ | 2491,67 $\pm 700,07$ | 3392,00 $\pm 656,88$ | 3127,8 ^{b**} |
| G2 | 5163,67 $\pm 1321,54$ | 5498,17 $\pm 1143,64$ | 4080,17 $\pm 1152,50$ | 5303,33 $\pm 1686,35$ | 4126,50 $\pm 780,19$ | 4318,60 $\pm 749,58$ | 4700,60 $\pm 671,43$ | 4899,33 $\pm 1261,32$ | 4774,8 ^a |
| G3 | 4811,33 $\pm 782,61$ | 4265,67 $\pm 917,11$ | 4709,00 $\pm 1574,24$ | 5029,67 $\pm 797,27$ | 3288,00 $\pm 1115,44$ | 5069,67 $\pm 1159,11$ | 4402,33 $\pm 562,51$ | 4582,33 $\pm 1995,95$ | 4523,5 ^a |
| MG | 4925,3 ^{b*} | 4680,7 ^b | 3550,9 ^a | 4163,1 ^a | 3343,6 ^b | 3947,7 ^b | 3952,1 ^b | 4362,4 ^b | |

*Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; **Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças entre grupos

Na avaliação diferencial dos leucócitos observa-se que o efeito de grupo foi registrado apenas para a contagem absoluta de linfócitos (Tabela 1), cujos menores valores médios (3.127,8 linfócitos/ μ L), foram atribuídos ao grupo de G1, o que refletiu na contagem global. No entanto, foram normais para a espécie, conforme mencionado acima (Tabela 3). O efeito de momento foi observado na contagem absoluta de linfócitos ($P=0,0288$), neutrófilos ($P=0,0232$), eosinófilos ($P=0,0070$) e monócitos ($P=0,0165$), conforme tabela 1, sendo observado no momento do parto e nas primeiras horas de vida discreta elevação na contagem de neutrófilos e discreta diminuição na contagem de linfócitos, monócitos e eosinófilos (Tabelas 1 e 4), salientando que os valores médios permaneceram dentro da faixa de normalidade para todos os tipos de leucócitos, com exceção dos neutrófilos segmentados nos quais evidenciou-se valores médios de 6.170,2 céls/ μ L, ou seja, leve neutrofilia. As alterações celulares, qualitativas e quantitativas, observadas nas ovelhas estudadas, embora em menor intensidade, podem ser justificadas como decorrente da liberação de glicocorticóides endógenos, resultante da partição, que acarretam nos ruminantes neutrofilia sem desvio para esquerda, linfopenia, moderada eosinopenia e em algumas situações monocitopenia, que podem perdurar por até 14 dias nos ovinos (ANOSA & OGBOGU, 1979; AZAB & ABDEL-MAKSOD, 1999; TORNQUIST & RIGAS, 2010). Os demais leucócitos, bastonetes e basófilos, não sofreram alterações biológicas e estatísticas ($P>0,05$).

Tabela 4 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem absoluta de monócitos ($/\mu$ L) e eosinófilos ($/\mu$ L) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) observadas durante o período de transição.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | MG |
|-----------|-------------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|
| | Monócitos ($/\mu$ L) | | | | | | | | |
| | 30DAP | AP(ante parto) | Parto | 24hPP | 72hPP | 5diasPP | 15diasPP | 30diasPP | |
| G1 | 154,33 \pm 197,46 | 68,50 \pm 62,16 | 38,75 \pm 77,50 | 0 \pm 0 | 26,25 \pm 30,64 | 60,50 \pm 50,71 | 31,75 \pm 36,77 | 17,00 \pm 34,00 | 49,63 ^{a**} |
| G2 | 93,50 \pm 37,60 | 85,67 \pm 96,18 | 65,33 \pm 77,84 | 20,50 \pm 50,21 | 48,80 \pm 66,92 | 69,50 \pm 95,62 | 85,17 \pm 153,00 | 80,83 \pm 148,26 | 68,66 ^a |
| G3 | 76,17 \pm 40,72 | 117,17 \pm 97,72 | 0 \pm 0 | 40,67 \pm 70,44 | 152,67 \pm 117,36 | 63,00 \pm 56,45 | 26,67 \pm 46,19 | 0 \pm 0 | 59,54 ^a |
| MG | 108,00 ^{a*} | 90,44 ^{ab} | 34,69 ^{ab} | 20,39 ^b | 75,91 ^{ab} | 64,33 ^{ab} | 47,86 ^{ab} | 32,61 ^{ab} | |
| | Eosinófilos ($/\mu$ L) | | | | | | | | |
| G1 | 185,83 \pm 361,06 | 120,83 \pm 120,44 | 17,5 \pm 35,00 | 15,75 \pm 31,50 | 28,50 \pm 32,92 | 46,25 \pm 59,28 | 137,00 \pm 169,34 | 167,50 \pm 113,02 | 89,89 ^{a**} |
| G2 | 111,17 \pm 39,61 | 42,83 \pm 51,43 | 19,50 \pm 47,76 | 56,83 \pm 65,47 | 30,40 \pm 41,65 | 23,50 \pm 57,56 | 44,83 \pm 77,54 | 86,00 \pm 84,44 | 51,88 ^a |
| G3 | 287,83 \pm 350,38 | 35,83 \pm 55,56 | 32,33 \pm 56,00 | 68,67 \pm 118,93 | 30,33 \pm 52,54 | 26,67 \pm 46,19 | 90,67 \pm 79,03 | 48,33 \pm 42,10 | 77,58 ^a |
| MG | 194,94 ^{a*} | 66,50 ^{ab} | 23,11 ^b | 47,08 ^{ab} | 29,74 ^b | 32,14 ^b | 90,83 ^{ab} | 100,61 ^{ab} | |

*Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; **Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças entre grupos

Quanto ao fibrinogênio plasmático, normalmente avaliado paralelamente ao leucograma nos ruminantes, não foi observado nem efeito de grupo ($P > 0,9129$), nem efeito de momento ($P > 0,2214$), estando suas concentrações médias situadas dentro da normalidade. Ao avaliar esta variável, BASTOS (2008) verificou elevação significativa do fibrinogênio plasmático entre os dias 1-7 após o parto, alcançando concentrações ainda mais elevadas entre os dias 15-21 (558mg/dL) após o parto, o qual justificou estar relacionado com a manutenção da homeostase e reparos teciduais.

Os eletroforetogramas do soro sanguíneo das ovelhas analisados, durante o período de transição, permitiu a identificação de até 30 proteínas com pesos moleculares que variaram de 16.000 Da a 300.000 Da. Destas proteínas, dez foram consideradas de interesse e submetidas à análise estatística: albumina, transferrina, PM 23.000 Da, imunoglobulina G de cadeia leve (IgGCL), imunoglobulina G de cadeia pesada (IgGCP), imunoglobulina A (IgA), haptoglobina, ceruloplasmina, $\alpha 1$ -glicoproteína ácida e $\alpha 1$ - antitripsina.

As fontes de variação, o valor de F da análise de variância e o nível de P das proteínas identificadas no soro sanguíneo das ovelhas podem ser visualizados na Tabela 5.

Tabela 5 – Nível de significância ($Pr > F$) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao proteinograma do soro sanguíneo das ovelhas suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação.

| Proteínas | Fatores de variação ($Pr > F$) | | |
|---------------------------------|----------------------------------|--------------|--------|
| | Grupos (G) | Momentos (M) | G x M |
| | soro sanguíneo | | |
| Proteína Total | 0,1387 | 0,0375 | 0,7029 |
| Albumina | 0,0391 | 0,4102 | 0,9993 |
| Transferrina | 0,0183 | 0,0022 | 0,9175 |
| IgG de cadeia pesada | <0,0001 | 0,9024 | 0,9683 |
| PM: 23.000Da | 0,0106 | 0,8184 | 0,9537 |
| Haptoglobina | 0,7255 | 0,9092 | 0,9994 |
| Ceruloplasmina | 0,1977 | 0,0823 | 0,9992 |
| IgG Total | <0,0001 | 0,8516 | 0,9038 |
| IgG de cadeia leve | 0,0002 | 0,3099 | 0,7204 |
| IgA | 0,3789 | 0,6982 | 0,0952 |
| $\alpha 1$ -glicoproteína ácida | 0,2918 | 0,0156 | 0,6681 |
| $\alpha 1$ -antitripsina | 0,9218 | 0,4578 | 0,9900 |

Ao analisar os resultados da proteína total constatou-se que os três grupos se comportaram de forma similar ($P>0,1387$) entre eles, no entanto foi observado efeito de momento ($P<0,0375$), conforme tabelas 5 e 6, nos valores da média geral um leve decréscimo na concentração das proteínas totais no momento que precedeu ao parto (6,74g/dL). Ao avaliar a proteína total em cabras da raça Saanen, SAUT et al. (2009) não evidenciaram influência do puerpério sobre a proteína total, com concentrações nos primeiros 30 dias após o parto oscilando entre $5,70 \pm 0,60$ g/dL e $6,40 \pm 0,80$ g/dL. THOMAS et al. (1988) verificaram concentrações de proteína total sérica mais elevados durante 18^o semana (6,9g/100mL) de gestação, quando comparados com a 19^o (6,6 g/100ml), 20^o (6,3 g/100ml) e 21^o (6,2g/100ml), sendo essa diminuição ao longo da gestação, justificada pela redução na concentração da globulina, devido à transudação seletiva desta proteína do plasma sanguíneo para o interior da glândula mamária. Este processo se faz necessário para a obtenção da proteção necessária nos primeiros momentos de vida dos borregos, uma vez que a placenta dos ruminantes não permite a passagem de imunoglobulinas da circulação materna para a fetal (SCHALM et al., 1971; GARRY et al., 1993; RUDNIK, 2001).

Tabela 6 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas da proteína total (g/dL), albumina (mg/dL), transferrina (mg/dL) e PM 23.000Da (mg/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) observadas durante o período de transição.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | MG |
|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | Proteína Total (g/dL) | | | | | | | | |
| | 30DAP | AP(ante parto) | Parto | 24hPP | 72hPP | 5diasPP | 15diasPP | 30diasPP | |
| G1 | 7,02±0,49 | 6,86±0,61 | 7,10±0,31 | 7,10±0,42 | 7,20±0,21 | 7,38±0,32 | 7,49±0,13 | 7,24±0,27 | 7,15 ^{a**} |
| G2 | 6,79±0,48 | 6,55±0,81 | 7,08±0,53 | 7,01±0,73 | 7,16±0,78 | 7,21±0,70 | 7,64±0,31 | 7,58±0,39 | 7,13 ^a |
| G3 | 7,19±0,56 | 6,80±0,75 | 6,71±0,12 | 6,81±0,35 | 6,80±0,74 | 6,91±0,44 | 6,85 ±048 | 6,99±0,08 | 6,91 ^a |
| MG | 7,00 ^{ab*} | 6,74 ^b | 7,01 ^{ab} | 6,99 ^{ab} | 7,09 ^{ab} | 7,19 ^{ab} | 7,42 ^a | 7,34 ^{ab} | |
| Albumina (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 3799,39 ±433,20 | 3333,65 ±656,68 | 3619,20 ±576,44 | 3457,94 ±564,62 | 3131,15 ±610,50 | 3211,38 ±820,85 | 3612,01 ±622,29 | 3655,57 ±765,61 | 3491,0 ^{b**} |
| G2 | 3764,25 ±355,88 | 3465,70 ±547,74 | 3739,85 ±702,86 | 3820,16 ±803,21 | 3579,37 ±800,90 | 3561,54 ±797,98 | 3970,27 ±568,67 | 3898,84 ±570,83 | 3719,1 ^{ab} |
| G3 | 4046,14 ±313,81 | 3713,70 ±553,26 | 3796,31 ±154,69 | 3728,57 ±225,28 | 3828,10 ±556,06 | 3897,95 ±395,44 | 3847,32 ±265,00 | 3980,16 ±187,14 | 3859,8 ^a |
| MG | 3869,9 ^{a*} | 3504,3 ^a | 3708,9 ^a | 3676,5 ^a | 3498,9 ^a | 3531,4 ^a | 3831,7 ^a | 3838,1 ^a | |
| Transferrina (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 353,83 ±60,20 | 406,63 ±26,66 | 372,85 ±27,02 | 404,66 ±19,47 | 454,64 ±46,81 | 481,66 ±83,85 | 384,90 ±52,23 | 450,06± 48,67 | 409,94 ^{b**} |
| G2 | 351,87 ±30,10 | 348,09 ±91,85 | 364,80 ±59,37 | 424,30 ±91,59 | 448,89 ±91,22 | 436,41 ±78,97 | 415,70 ±65,44 | 415,94 ±61,88 | 399,91 ^b |
| G3 | 416,40 ±72,72 | 437,07 ±124,49 | 442,26 ±28,98 | 496,60 ±59,82 | 479,94 ±96,62 | 510,31 ±132,63 | 430,24 ±14,70 | 406,66 ±50,87 | 447,30 ^a |
| MG | 374,04 ^{b*} | 397,26 ^{ab} | 385,15 ^{ab} | 435,83 ^{ab} | 457,82 ^a | 467,39 ^a | 409,58 ^{ab} | 424,99 ^{ab} | |
| PM 23.000Da | | | | | | | | | |
| G1 | 171,78 ±31,31 | 173,34 ±43,37 | 157,27 ±15,23 | 165,07 ±22,17 | 194,52 ±32,16 | 196,09 ±53,25 | 143,60 ±14,46 | 158,58 ±15,81 | 169,96 ^{a**} |
| G2 | 132,48 ±44,38 | 143,50 ±41,51 | 137,50 ±54,04 | 163,05 ±50,54 | 145,79 ±58,62 | 145,82 ±45,34 | 142,36 ±44,75 | 150,43 ±50,46 | 144,58 ^b |

| | | | | | | | | | |
|-----------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| G3 | 152,91 ±52,34 | 156,25 ±61,42 | 178,33 ±54,31 | 174,84 ±31,22 | 177,49 ±13,26 | 180,12 ±11,87 | 180,01 ±11,83 | 192,83 ±31,52 | 170,20 ^a |
| MG | 152,39 ^{a*} | 157,70 ^a | 153,31 ^a | 166,67 ^a | 169,96 ^a | 169,20 ^a | 151,43 ^a | 163,74 ^a | |

*Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; **Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferenças entre grupos

Na avaliação da concentração da albumina, constatou-se efeito de grupo ($P < 0,0391$), conforme tabela 5, observando menores concentrações médias desta variável no grupo G1 (3.491,0 mg/dL). Durante o período de transição as concentrações de albumina não sofreram alteração estatística ao longo dos momentos de observação ($P > 0,4102$), de acordo com as tabelas 5 e 6), conforme também observado por SAUT et al. (2009) na espécie caprina e divergentes dos achados de SILVA et al. (2013), que relataram diminuição gradativa desta variável no decorrer da lactação de ovelhas.

Apesar de não haver diferenças entre os momentos experimentais na albumina sérica, foi verificada discreta redução dos valores no ante-parto (3.504,3 mg/dL), assim como diminuição da proteína total, em concordância aos relatos de LEMOS (2011) em ovelhas da raça Santa Inês, que atribuiu esta diminuição como resultado da permeabilidade capilar aumentada do úbere ao redor do parto com a finalidade de aumentar o desvio dos componentes séricos para o leite e proporcionar o fornecimento de substâncias essenciais aos recém-nascidos (CARROL & KANEKO, 1967; JAIN, 1993; ÖSTENSSON, 1993).

As concentrações sanguíneas da transferrina variaram entre grupos ($P < 0,0183$), ou seja, o grupo controle (G3) foi o que destoou dos demais desde o momento que antecedeu o início da administração dos suplementos, apresentando concentração média desta proteína (447,30 mg/dL) superior aos demais. Foi verificado efeito de momento ($P < 0,0022$) ao longo do período de transição, particularmente nos momentos que precederam o parto verificando as menores concentrações desta variável (Tabelas 5 e 6). LEMOS (2011) não verificou diferença na concentração desta proteína no momento do parto e ao longo da lactação, constatando concentração média de 449,07 mg/dL, enquanto que SAUT et al. (2009), apesar de não verificar diferença estatística entre os momentos, obtiveram menores valores aos 30 dias após o parto de cabras Saanen (589,1 mg/dL), utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida. A transferrina nos ruminantes é uma proteína de fase aguda negativa, ou seja, apresenta diminuição dos seus valores durante os processos inflamatórios, estando relacionada com os níveis de ferro nos fluidos corpóreos, os quais têm influência direta sobre as infecções bacterianas, em virtude da grande maioria das bactérias necessitar de ferro para o seu crescimento (TIZARD, 2013), não sendo verificados estes achados no presente estudo.

Na análise do comportamento da proteína não identificada nominalmente denominada de peso molecular de 23.000 Da, verificou-se que os valores médios da concentração sérica

mantiveram-se similares durante todo o período de observação, não havendo efeito de momento ($P>0,8184$), no entanto verificou-se que o grupo G2 (Tabelas 5 e 6), foi o que apresentou menores concentrações médias séricas (144,58 mg/dL) ($P<0,0106$), quando comparado aos demais. JULIANO et al. (2009) detectaram esta proteína nos bovinos da raça Curraleiro pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE, porém não a quantificou, enquanto LEMOS (2011), trabalhando com ovelhas também não observou diferença significativa, permanecendo os valores médios constantes ao longo dos momentos analisados, com médias de 201,24 mg/dL, as quais foram um pouco mais elevadas que o presente trabalho.

Foi observada diferença entre as concentrações médias da imunoglobulina da classe G, IgG Total ($P<0,0001$), IgGCP ($P<0,0001$) e IgGCL ($P<0,0002$) entre os grupos avaliados, sendo verificado menores concentrações de IgG no grupo G3 (controle), quando comparado aos demais. Quanto à IgA não foi observado efeito de momento ($P>0,3789$), nem de grupo ($P>0,6982$) (Tabelas 5 e 7). Com relação ao efeito de grupo da IgG, a suplementação oferecida às ovelhas pode ter interferido no processo de diminuição da mobilização das reservas energéticas e de gordura, proporcionando equilíbrio nutricional, uma vez que é nesse período que ocorre supressão das funções imunes tornando-as susceptíveis às doenças infecciosas (CHIOFALO et al., 2005; TÓTHOVÁ et al., 2008), fato não verificado neste estudo.

Tabela 7 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das imunoglobulinas (IgG total, IgGPL, IgGCL e IgA) (mg/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) observadas durante o período de transição.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | MG |
|---------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------------|
| | Imunoglobulina G (total) (mg/dL) | | | | | | | | |
| | 30DAP | AP(ante parto) | Parto | 24hPP | 72hPP | 5diasPP | 15diasPP | 30diasPP | |
| G1 | 2116,91 ±251,84 | 2187,04 ±479,94 | 2347,26 ±488,35 | 2466,94 ±579,71 | 2649,67 ±640,75 | 2538,09 ±634,78 | 2751,87 ±635,49 | 2567,50 ±522,43 | 2453,16 ^{a**} |
| G2 | 2084,37 ±674,12 | 2112,72 ±614,32 | 2076,21 ±456,44 | 2229,06 ±507,64 | 2020,42 ±555,37 | 2136,13 ±646,58 | 2479,64 ±675,79 | 2193,76 ±762,45 | 2166,53 ^a |
| G3 | 1962,29 ±486,26 | 1922,79 ±568,85 | 1657,47 ±80,71 | 1619,95 ±67,30 | 1576,43 ±155,75 | 1645,68 ±165,29 | 1699,51 ±151,91 | 1758,20 ±191,81 | 1730,29 ^b |
| MG | 2054,5 ^{a*} | 2060,1 ^a | 2083,8 ^a | 2156,1 ^a | 2119,2 ^a | 2112,0 ^a | 2383,4 ^a | 2210,9 ^a | |
| IgG cadeia pesada (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 1551,18 ±167,58 | 1546,54 ±346,13 | 1734,03 ±372,07 | 1823,02 ±402,33 | 1881,78 ±484,74 | 1849,71 ±472,83 | 1973,87 ±459,65 | 1809,53 ±363,60 | 1757,57 ^{a**} |
| G2 | 1504,19 ±494,71 | 1481,60 ±425,03 | 1545,60 ±292,67 | 1597,21 ±331,92 | 1573,56 ±455,46 | 1578,67 ±449,09 | 1745,91 ±404,44 | 1626,21 ±576,90 | 1581,08 ^a |
| G3 | 1404,20 ±345,53 | 1312,49 ±384,34 | 1250,97 ±111,68 | 1200,97 ±18,72 | 1136,09 ±164,45 | 1170,90 ±141,95 | 1253,30 ±119,34 | 1236,49 ±171,50 | 1268,21 ^b |
| MG | 1486,5 ^{a*} | 1434,4 ^a | 1550,1 ^a | 1573,4 ^a | 1567,4 ^a | 1568,0 ^a | 1702,4 ^a | 1589,9 ^a | |
| IgG cadeia leve (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 565,73 | 687,25 | 613,23 | 643,92 | 767,88 | 787,40 | 778,00 | 757,97 | 687,15 ^{a**} |

| | | | | | | | | | |
|--------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | ±91,82 | ±128,71 | ±120,66 | ±180,74 | ±180,64 | ±129,22 | ±183,98 | ±160,26 | |
| G2 | 580,18 | 631,12 | 556,84 | 631,86 | 562,49 | 624,61 | 733,74 | 701,64 | 625,88 ^a |
| | ±186,66 | ±212,27 | ±174,01 | ±199,99 | ±166,89 | ±191,02 | ±277,21 | ±213,87 | |
| G3 | 558,08 | 610,30 | 406,50 | 418,97 | 440,33 | 474,77 | 446,21 | 521,71 | 504,53 ^b |
| | ±172,22 | ±208,51 | ±30,97 | ±55,96 | ±35,21 | ±36,59 | ±42,46 | ±30,55 | |
| MG | 568,00 ^{a*} | 642,89 ^a | 544,77 ^a | 582,66 ^a | 600,42 ^a | 628,14 ^a | 681,00 ^a | 673,05 ^a | |
| IgA (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 59,92 | 67,92 | 55,57 | 68,61 | 73,00 | 69,47 | 57,56 | 53,93 | 63,25 ^{a**} |
| | ±29,85 | ±26,92 | ±5,04 | ±39,00 | ±22,84 | ±31,64 | ±63,08 | ±31,87 | |
| G2 | 53,57 | 50,58 | 54,63 | 44,17 | 52,83 | 59,73 | 40,73 | 51,19 | 50,93 ^a |
| | ±19,84 | ±22,29 | ±21,43 | ±11,15 | ±22,33 | ±9,35 | ±9,05 | ±19,91 | |
| G3 | 59,83 | 47,73 | 75,49 | 68,69 | 59,35 | 49,79 | 55,82 | 45,80 | 57,81 ^a |
| | ±23,39 | ±12,03 | ±6,16 | ±0 | ±15,90 | ±21,56 | ±7,68 | ±0 | |
| MG | 57,77 ^{a*} | 55,41 ^a | 61,89 ^a | 60,49 ^a | 61,72 ^a | 59,66 ^a | 51,37 ^a | 50,30 ^a | |

*Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; **Letras maiúsculas distintas na mesma colunas indicam diferenças entre grupos

Não foi observado efeito de momento para estas classes de imunoglobulinas, permanecendo suas concentrações estáveis durante todo o período experimental (Tabelas 5 e 7). As concentrações estáveis destas classes de imunoglobulinas durante o período de transição diferem do encontrado por MORAES et al. (1997), que atribuíram a diminuição das concentrações das imunoglobulinas antes e depois do parto à migração destas proteínas do sangue para a glândula mamária. Esta não variabilidade nas concentrações das imunoglobulinas (IgA e IgG) nas ovelhas no período estudado também foram relatadas por SAUT et al. (2009) na espécie caprina, que levantou a hipótese desta dinâmica das imunoglobulinas próximo parto ocorrer de forma distinta dos bovinos em que há migração maciça de imunoglobulinas para a glândula mamária (MORAES et al., 1997). Deve-se salientar que os resultados observados neste estudo com a espécie ovina são semelhantes aos verificados por SAUT et al. (2009), podendo este comportamento ser inerente dos pequenos ruminantes, tendo em vista em um outro artigo relacionado a este estudo (CAMPOS et al., 2013) ter sido constatado concentrações satisfatórias de imunoglobulinas no colostro destas ovelhas.

Quanto ao efeito de grupo, não foi observado diferença estatística ($P>0,05$) entre os animais suplementados (G1 e G2) e o grupo controle (G3) para nenhuma das proteínas de fase aguda positiva, se comportando os grupos de forma homogênea.

Na análise da haptoglobina, ceruloplasmina e α 1-antitripsina constatou-se que as concentrações séricas destas proteínas não sofreram alterações ($P>0,05$), conforme Tabelas 5 e 8, durante todo o período de transição, sendo observado efeito de momento ($P<0,0156$) somente nas concentrações séricas de α 1- glicoproteína ácida, sendo verificada menores concentrações desta proteína no momento que antecedeu o parto (4,87 g/dL) e concentrações máximas 24 horas após o parto (9,05 mg/dL).

Tabela 8 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das proteínas de fase aguda positiva haptoglobina (mg/dL), ceruloplasmina (mg/dL), $\alpha 1$ glicoproteína ácida (mg/dL) e $\alpha 1$ -antitripsina (mg/dL) de ovelhas suplementadas ou não (G3) no período final da gestação com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) observadas durante o período de transição.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | MG |
|--|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| | Haptoglobina (mg/dL) | | | | | | | | |
| | 30DAP | AP(ante parto) | Parto | 24hPP | 72hPP | 5diasPP | 15diasPP | 30diasPP | |
| G1 | 12,43 ±3,37 | 11,48 ±4,87 | 10,42 ±2,56 | 10,16 ±2,11 | 12,12 ±5,31 | 12,01 ±1,04 | 11,61 ±6,56 | 13,70 ±2,78 | 11,71 ^{a**} |
| G2 | 10,29 ±4,49 | 11,04 ±3,37 | 10,87 ±5,46 | 10,38 ±8,48 | 13,52 ±8,77 | 10,25 ±7,47 | 10,16 ±5,34 | 9,10 ±5,82 | 10,75 ^a |
| G3 | 11,44 ±3,64 | 10,18 ±3,95 | 10,31 ±2,81 | 11,05 ±2,47 | 13,81 ±4,58 | 8,87 ±0,80 | 10,81 ±2,75 | 11,86 ±3,59 | 10,98 ^a |
| MG | 11,24 ^{a*} | 10,89 ^a | 10,61 ^a | 10,50 ^a | 13,15 ^a | 10,35 ^a | 10,69 ^a | 11,11 ^a | |
| Ceruloplasmina (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 70,37 ±25,21 | 95,74 ±58,49 | 92,31 ±44,87 | 114,42 ±33,40 | 104,73 ±75,62 | 114,48 ±78,41 | 89,63 ±28,54 | 70,76 ±46,39 | 94,05 ^{a**} |
| G2 | 63,31 ±27,88 | 57,58 ±10,19 | 83,14 ±17,82 | 81,02 ±22,43 | 75,78 ±48,44 | 61,63 ±17,36 | 77,33 ±25,31 | 46,52 ±15,01 | 68,29 ^a |
| G3 | 64,37 ±35,60 | 81,89 ±39,13 | 94,02 ±15,09 | 112,65 ±17,04 | 89,92 ±27,11 | 92,14 ±36,78 | 68,40 ±23,48 | 60,48 ±9,82 | 82,98 ^a |
| MG | 66,01 ^{a*} | 78,40 ^a | 89,82 ^a | 102,69 ^a | 90,14 ^a | 89,41 ^a | 78,45 ^a | 59,25 ^a | |
| $\alpha 1$ glicoproteína ácida (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 8,05 ±2,93 | 5,78 ±1,73 | 4,87 ±0,47 | 9,83 ±3,56 | 6,55 ±2,41 | 4,11 ±1,92 | 5,90 ±1,07 | 9,45 ±8,04 | 6,74 ^{a**} |
| G2 | 5,45 ±2,31 | 4,19 ±1,88 | 5,60 ±2,31 | 8,07 ±2,45 | 7,78 ±5,30 | 5,85 ±2,28 | 6,43 ±3,42 | 6,20 ±2,14 | 6,16 ^a |
| G3 | 6,30 ±2,93 | 4,61 ±1,20 | 7,29 ±1,53 | 9,63 ±1,52 | 7,77 ±2,12 | 9,52 ±4,36 | 6,53 ±3,27 | 9,57 ±5,10 | 7,30 ^a |
| MG | 6,51 ^{ab*} | 4,87 ^b | 5,70 ^{ab} | 9,05 ^a | 7,40 ^{ab} | 6,16 ^{ab} | 6,29 ^{ab} | 8,12 ^{ab} | |
| $\alpha 1$ antitripsina (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 214,44 ±30,91 | 208,84 ±31,28 | 180,46 ±27,25 | 204,28 ±14,94 | 194,49 ±26,85 | 209,50 ±23,08 | 214,75 ±19,15 | 214,76 ±0 | 204,74 ^{a**} |
| G2 | 205,87 ±107,74 | 186,08 ±47,94 | 187,90 ±56,43 | 193,03 ±35,64 | 220,29 ±75,22 | 232,30 ±23,32 | 211,92 ±55,15 | 251,39 ±68,79 | 209,43 ^a |
| G3 | 247,79 ±61,74 | 212,67 ±31,79 | 176,98 ±43,28 | 200,05 ±35,79 | 209,37 ±11,82 | 222,94 ±37,07 | 180,70 ±44,78 | 227,64 ±23,56 | 209,98 ^a |
| MG | 226,29 ^{a*} | 204,03 ^a | 183,31 ^a | 197,87 ^a | 209,27 ^a | 222,62 ^a | 202,14 ^a | 234,56 ^a | |

*Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; **Letras maiúsculas distintas na mesma colunas indicam diferenças entre grupos

As concentrações séricas da haptoglobina antes e após o parto foram bem inferiores aos relatados por BASTOS (2008) e SIMPLÍCIO (2011), sendo observado nesse estudo, valores máximos de 13,15mg/dL às 72h após o parto apesar de não ser observada diferença estatística significativa entre os momentos, caracterizando não haver qualquer influência do parto sobre as concentrações desta proteína. Estes valores estão bem abaixo dos 20mg/dL relatados por SKINNER & ROBERTS (1994), como indicativos de infecção. A $\alpha 1$ -glicoproteína ácida se mostrou mais sensível, neste

estudo, quando comparada a haptoglobina, sendo verificada elevação significativa da concentração desta proteína às 24hPP, provavelmente como consequência da reparação tecidual resultante do parto, semelhantemente à elevação, somente desta proteína, constatada por SAUT et al. (2009) na primeira semana após o parto de cabras da raça Saanen, atribuindo este achado ao puerpério fisiológico. Quanto à ceruloplasmina, BASTOS (2008) verificou que o período de transição também não exerceu influência sobre a atividade desta variável.

CONCLUSÃO

A suplementação com cobalto associado à vitamina B12 resultou na elevação das variáveis da série vermelha, assim como a administração de ambos os suplementos em maiores concentrações sanguíneas de imunoglobulina G durante o período de transição.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O trabalho obteve parecer favorável da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFRPE de acordo com a resolução 269/2007 do CEPE/UFRPE de acordo com as normas sugeridas pelo COBEA e pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals*.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio financeiro e concessão da Bolsa de Pós-Graduação (PBPG).

REFERÊNCIAS

- AFONSO, J.A.B. **Toxemia da prenhez**. Jornal do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Pernambuco: Veterinária e Zootecnia, CRMV-PE. 26, p.7. 2006.
- ANOSA, V.O.; OGBOGU, D.A. The effect of parturition on the blood picture of sheep. **Research Veterinary Science**, v.26, p.380-382, 1979.
- AZAB, M.E.; ABDEL-MAKSoud, H.A. Changes in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. **Small Ruminant Research**, v.34, p.77-85. 1999.
- BASTOS B.L. **Cinética das proteínas de fase aguda durante a gestação e pós-parto de ovelhas da raça Santa Inês como ferramenta auxiliar no monitoramento da saúde gestacional**. 2008. 67f. Dissertação de mestrado em Ciência Animal nos Trópicos - Universidade Federal da Bahia, Salvador. Disponível em: <http://www.mevtropical.ufba.br/arquivos/dissertacoes/2006/bruno-bastos.pdf>. Acesso em marc 2014.

- BYERS, S.R.; KRAMER, J.W. Normal Hematology of Sheep and Goats. In: WEISS, D.J.; WORDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6 ed. Wiley-Blackwell Publishing Ltd, Ames, 2010. cap. 108, p.829-835.
- BORGES, F.B. **Uso da niacina na alimentação de vacas de alta produção**. 2003. Acessado em 28 abr. 2007. Disponível em: www.zootec.com.br/niacina.htm.
- CAMPOS, A.G.S.S.; MENDONÇA, C.L.; SANTOS, R.A.; AFONSO, J.A.B.; SOARES, P.C.; FAGLIARI, J.J.; SILVA, P.C. Concentração de imunoglobulinas do colostro de ovelhas submetidas à administração de propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂. In: Revista Científica Veterinária e Zootecnia-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus Botucatu. **Anais...** : X Congresso Brasileiro de Buiatria, Belém – Pará, 2013.
- CARROL, E.J.; KANEKO, J.J. The clinical significance of serum protein fractionation by electrophoresis. **The California Veterinarian**, p.22-25, 1967.
- CHIOFALO, V. et al. Effect of propylene glycol on pré- and postpartum performance by dairy ewes. **Small Ruminant Research**, v.58, p.107-114, 2005.
- CIARLINI, P.C.; CIARLINI, L.D.R.P.; ALENCAR, N.X.; HOHAYAGAWA, A.; RODRIGUES, C.F.C. Metabolismo oxidativo de neutrófilos em ovelhas naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais e correlação entre nível sérico de cortisol e carga parasitária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.3, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352002000300004>. Acesso em marc 2014.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, 528p.
- DIFFAY, B.C.; McKENZI, D.; WOLF, C.; PUGH, D.G. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D.C. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2004, p.1-19.
- DUNCAN, W.R.H.; MORRISON, E.R.; GARTON, G.A. Effects of cobalt deficiency in pregnant and post-parturient ewes and their lambs. **British Journal of Nutrition**, v.46, p.337-344, 1981. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1079/BJN19810039>. Acesso em marc 2014.
- EL-SHERIF, M.M.A.; ASSAD, F. Changes in some blood constituents of Bark ewes during pregnancy and lactation under semi arid conditions. **Small Ruminant Research**, v.40, p.269-277, 2001.
- FAGLIARI J.J.; SILVA S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de equínos hípidos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.6, p.559-586, 2002.
- GARRY, F.; ALDRIDGE, B., ADAMS, R. Role of colostral transfer in neonatal calf management: current concepts in diagnosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.15, n.8, p.1167-1175, 1993.
- GRUMMER, R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2820-2833, 1995.
- ISLAM, R. et al. Effects of hematinics on body weight and some hematological values in sheep and goats. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.7, n.4, p.582-584, 2005.
- JACOB, N.; VADODARIA, V.P. Haematological profile of ewes during peri-parturient periods. **Indian Veterinary Journal**, v.71, p.131-133, 1994.
- JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**, Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JULIANO, R.S. et al. Proteinograma sérico de bovinos da raça Curraleiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.533-538, 2009.
- LAEMMLI, UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p. 680-685, 1970.
- LEMOS, V.F. **Proteinograma do soro sanguíneo e lácteo de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação**. 2011. 99f. Dissertação de Mestrado em Sanidade e Reprodução de Ruminantes - Unidade

- Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, PE. Disponível em: http://200.17.137.108/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1697. Acesso em marc 2014.
- MORAES, M.P.; WEIBLEN, R.; SILVA, A.M.; TOBIAS, F.L. Evolução da imunidade passiva em fêmeas bovinas da raça Holandesa. **Ciência Rural**, v.27, n.3, p. 435-440, 1997. Disponível em:
- National Research Council – NRC. **Nutrient requirements of sheep**. 6 ed. Washington D.C: National Academy Press, 1985, p.99.
- NIELSEN, N.I.; INGVARTSEN, K.L. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. **Animal Feed and Technology**, v. 115, p.191-213, 2004.
- OLIVEIRA, D.R. **Índices produtivos e perfil metabólico de ovelhas Santa Inês no pós-parto, criadas na microregião Bragantina do Estado do Pará, Brasil**. 2010. 113f. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ. Disponível em: www.uff.br/clinicaveterinaria/teses/M204.pdf. Acesso em marc 2014.
- ÖSTENSSON, K. Variations during lactation in total and differential leukocyte counts, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, antitrypsin and serum albumin in foremilk and residual milk from non-infected quarters in the bovine. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.34, n.1, p.83-93, 1993.
- PEARSON, E.G.; MASS, J. In: SMITH, B.P. **Large Animal Internal Medicine**, 3ed. Mosby: St. Louis, 2002, 2112p.
- RUDNIK, L. Imunologia molecular. In: **Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2001. 19p. Disponível em: www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/imunologia.pdf. Acesso em 27 marc. 2013.
- RUEG, P.L.; MILTON, R.L. Body condition score of Holstein cow on Prince Edward Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance, and disease. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.552-564, 1995.
- RUSSEL, A.J.F. Nutrition of pregnant ewe. In: __. **Sheep and goat practice**. London: Baillière Tindall, 1991, p.29-39.
- SAUT, J.P.E.; SOUZA, R.M.; BIRGEL, D.B.; POGLIANI, F.C.; CAVALCANTE, C.Z.; MIYASHIRO, S.I.; FAGLIARI, J.J.; BIRGEL JÚNIOR, E.H. Influência do puerpério sobre o proteinograma sérico de caprinos da raça Saanen obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, n.3, p.661-670, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n3p661>. Acesso em marc 2014.
- SCHALM, O.W.; CARROL, E.J.; JAIN, N.C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360p.
- SILVA, J.S.C.; GUARANÁ, E.L.S.; LEMOS, V.F.; SOARES, P.C.; AFONSO, J.A.B.; MENDONÇA, C.L. Metabolismo energético, proteico e mineral de ovelhas Santa Inês híidas e com mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.9, p.1087-1096, 2013.
- SIMPLÍCIO, K.M.M.G. **Leucograma e proteínas de fase aguda de ruminantes domésticos sadios e enfermos**. 2011. 118f. Dissertação Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP. Disponível em: http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bja/33004102072P9/2011/simplicio_kmmg_me_jabo.pdf. Acesso em marc 2014.
- SKINNER, J.G.; ROBERTS, L. Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. **The Veterinary Record**, v.134, p.33-36, 1994.
- STATISTICAL ANALYSES SYSTEM INSTITUTE, SAS® **User's Guide**: Statistics version. Cary, New York. 2009.
- THOMAS, V.M.; MCINERNEY, M.J.; KOTT, R.W. Influence of body condition and lasalocid during late gestation on blood metabolites, lamb birth weight and colostrums composition and production in finn-cross ewes. **Journal of Animal Science**, v.66, p. 783-791, 1988.
- TIZARD, I.R. **Veterinary immunology**. 9ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013. p.551.

TORNQUIST, S.J.; RIGAS, J. Interpretation of ruminant leukocyte responses. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6ed. Blackwell Publishing Ltda: Iowa, 2010. cap 46, p.307-313.

TÓTHOVÁ, C.S.; NAGY, O.; SEIDEL, H.; KONVIČNÁ, J.; FARKAŠOVÁ, C.; KOVÁČ, G. Acute phase proteins and variables of protein metabolism in dairy cows during the pre- and postpartal period. **Acta Veterinaria BRNO**, v.77, p. 51-57, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2754/avb200877010051>. Acesso em marc 2014.

6.2- ARTIGO 2

Perfil eletroforético do colostro de ovelhas suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação¹

Anne Grace S. S. Campos^{2*}, Rogério A. dos Santos², José Augusto B. Afonso³, Pierre C. Soares⁴, José J. Fagliari⁵, Paulo C. Silva⁵ e Carla L. de Mendonça³

ABSTRACT: Campos A.G.S.S., Santos R.A., Afonso J.A.B., Soares P.C., Fagliari J.J., Silva P.C. & Mendonça C.L. 2014. [Electrophoretic profile of colostrum of ewes supplemented with propylene glycol and cobalt associated with vitamin B₁₂ in late pregnancy.] Perfil eletroforético do colostro de ovelhas suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor, s/n, Boa Vista, Garanhuns, C.P.152, 55.292-570, Garanhuns, PE, Brazil. E-mail: annegracevet@yahoo.com.br

This work aimed to evaluate the proteinogram of colostrum of ewes submitted to administration of propylene glycol and cobalt associated with vitamin B₁₂ in late pregnancy. Eighteen pregnant Santa Inês breed ewes, aged from eighteen months to five years were distributed by probabilistic sampling in three experimental groups, approximately 30 days before the expected delivery date. In group 1 (G1/n=6), it was administered daily oral dosage of 30 ml of propylene glycol PA; Group 2 (G2/n=2) it was administered daily oral dosage of 1 mg of cobalt chloride in 1% solution and 2mg of vitamin B₁₂ intramuscular weekly and Group 3 (G3/n=6): control group. Soon after delivery proceeded to harvest 30mL of colostrums, which were stored in appropriate containers and sent to the laboratory. After homogenization, it was added to each 1000 µL of colostrum, 75 µL solution of rennin, which was kept in a water bath at 37°C for about 20 minutes and centrifuged at 21.000G for ten minutes in a refrigerated centrifuge. Later, the intermediate fraction, corresponding to colostrum whey, was aliquoted and kept at -80°C ultrafreezer for subsequent determination of proteins. The determination of the total protein colostrum whey was performed using commercial reagent, observing the linearity test for colostrum. The separation of proteins was performed using the technique of electrophoresis on polyacrylamide gel containing sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE). IgA proteins, lactoferrin, albumin, IgG heavy chain (IgGCP), β-casein, IgG light chain (IgGCL), β-lactoglobulin and α-lactalbumin were identified, while there was no influence of the administration of supplements during late pregnancy on the concentration of proteins identified in the colostrum of ewes.

INDEX TERMS: colostrum, electrophoretic profile, gluconeogenic supplements, peripartum, small ruminants.

RESUMO: Este trabalho teve por objetivo avaliar o proteinograma do colostro de ovelhas submetidas a administração de propileno glicol e de cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação. Dezoito ovelhas da raça Santa Inês, prenhas e com idade variando entre 18 meses a cinco anos foram distribuídas, por amostragem probabilística em três grupos experimentais, aproximadamente 30 dias antes da data prevista para o parto. No Grupo 1 (G1/n=6) foram administrados 30mL de propileno glicol P.A. via oral diariamente; Grupo 2 (G2/n=6) onde foi administrado 1mg de cloreto de cobalto em solução a 1% via oral diariamente e 2mg de vitamina B₁₂, via intramuscular semanalmente e Grupo 3 (G3/n=6): grupo controle. Logo após o parto procedeu-se a colheita de 30mL de colostro, que foram acondicionados em recipientes apropriados e encaminhados ao laboratório. Após homogeneização, adicionou-se a cada 1.000 µL de colostro, 75 µL de solução de renina, que foi mantido em banho-maria a 37°C por aproximadamente 20 minutos e centrifugado a 21.000G durante dez minutos em centrífuga refrigerada. Posteriormente, a fração intermediária, correspondente ao soro do colostro, foi aliquoteada e mantida em ultrafreezer a -80°C para posterior determinação das proteínas. A determinação da proteína total do soro colostrual foi realizada empregando-se reagente comercial. A separação das proteínas foi realizada utilizando-se a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Foram identificadas as proteínas IgA, lactoferrina, albumina, IgG de cadeia pesada (IgGCP), β-caseína, IgG

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, 52171-030, PE, Brasil

³ Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor, s/n, Boa Vista, Garanhuns, C.P.152, 55292-570, Garanhuns, PE, Brasil.

⁴ Depto de Medicina Veterinária, UFRPE, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, 52171-030, PE, Brasil.

⁵ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de Jaboticabal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil.

de cadeia leve (IgGCL), β -lactoglobulina and α -lactoalbumina, não havendo influência da administração dos suplementos durante o final da gestação sobre as concentrações proteicas do colostro.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: suplementos gliconeogênicos, pequenos ruminantes, periparto, perfil eletroforético, colostro.

INTRODUÇÃO

A administração de suplementos gliconeogênicos em ruminantes durante o periparto é prática comum adotada na tentativa de minimizar o impacto econômico que os distúrbios metabólicos acarretam neste período. Dentre esses suplementos o propileno glicol vem sendo administrado como alternativa para minimizar o balanço energético negativo por sua ação na redução da concentração sanguínea de β -hidroxibutirato (BHB) e dos ácidos graxos não esterificados (AGNEs) e no aumento da concentração de glicose e insulina, a fim de melhorar a performance produtiva dos animais (Nielsen & Ingvarsten 2004, Chiofalo et al. 2005, Santos et al. 2012). O cobalto vem sendo empregado na alimentação de fêmeas gestantes por ser importante microelemento utilizado pela microflora do rúmen para a síntese de vitamina B₁₂, que por sua vez é coenzima essencial no metabolismo do ácido propiônico, na gliconeogênese e na geração de energia. Ambos os suplementos são imprescindíveis para o desempenho produtivo do rebanho, interferindo no processo de mobilização das reservas energéticas e de gordura, neste período crítico para o animal, que precede o parto e início da lactação (Duncan et al. 1981, Borges 2003, Afonso 2006).

O colostro é a primeira secreção láctea produzida, rico em imunoglobulinas, além de ser um alimento altamente energético, uma boa fonte de minerais, enzimas, hormônios, fatores de crescimento e peptídeos neuroendócrinos para o animal recém nato (Nowak & Poindron 2006, Bolzan et al. 2010). A composição do colostro é diferenciada do leite, quando do estabelecimento da lactação, com algumas proteínas secretadas pela glândula mamária presentes em concentrações mais elevadas, conforme relatado com maior frequência nas espécies bovina e caprina (Levieux & Ollier 1999, Levieux et al. 2002).

Na espécie ovina, as informações qualitativas e quantitativas sobre as proteínas presentes no colostro são escassas na literatura nacional e internacional. Sendo a suplementação efetuada no final da gestação uma prática frequente na ovinocultura, este estudo teve por objetivo identificar e quantificar as proteínas presentes no soro colostrado de ovelhas suplementadas com propileno glicol e com cobalto associado à vitamina B₁₂ durante a fase final da gestação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram acompanhadas 18 ovelhas da raça Santa Inês prenhes, pesando aproximadamente 40kg, mantidas em aprisco de experimentação. Aproximadamente 30 dias antes da data prevista para o parto, após avaliação ultrassonográfica, as ovelhas foram distribuídas por amostragem probabilística em três grupos e suplementadas, conforme a seguir: Grupo 1 (G1/n=6) administrado 30mL de propileno glicol P.A. (Propileno glicol P.A., Sigma Aldrich Brasil Ltda) via oral diariamente; Grupo 2 (G2/n=6) administrado 1mg de cloreto de cobalto em solução a 1% via oral diariamente e 2mg de vitamina B₁₂ (Monovin B₁₂ Lab. Bravet Ltda) via intramuscular semanalmente (NRC 2007) e Grupo 3 (G3/n=6): grupo controle. Logo após o parto, procedeu-se a avaliação clínica da glândula mamária e a colheita de aproximadamente 30mL de colostro, que foram acondicionados em recipientes apropriados e encaminhados ao laboratório sob refrigeração.

Para obtenção do soro, empregou-se a técnica descrita por Lemos et al. (2013). Inicialmente procedeu-se a homogeneização da amostra e a cada 1.000 μ L de colostro acrescentou-se 75 μ L de solução de renina (coalho Estrela ®), que foi mantido em banho-maria a 37°C por aproximadamente 20 minutos e centrifugado a 21.000G durante dez minutos em centrífuga refrigerada (Mikro 200R). Posteriormente, a fração intermediária, resultante da solução trifásica, correspondente ao soro do colostro, foi alíquotada em tubos tipo eppendorf e armazenadas em ultrafreezer² a -80°C para posterior caracterização das proteínas. A concentração da proteína total foi determinada empregando-se reagente comercial (Proteína total, Labtest Diagnóstica), observando-se a linearidade do teste. A separação das proteínas se deu pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme descrito por Laemmli (1970) e Fagliari & Silva (2002). Para a identificação das proteínas foi empregada como referência solução marcadora (Sigma Sigma- Aldrich Corporation, 3050 Spruce Street, St Louis, MO 63103, USA.) com diferentes pesos moleculares (6.500-200.000 Da) e as proteínas purificadas lactoferrina, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina. A determinação das concentrações proteicas foi obtida por meio de densitômetro computadorizado (Shimatzu CS 9301). Em função do protocolo empregado (SDS-PAGE), a imunoglobulina G (IgG) foi separada em duas cadeias, cadeia leve (IgGCL) e cadeia pesada (IgGCP).

Os resultados foram organizados com dados de medidas de tendência central e submetidos à análise de variância para avaliação de efeito de grupo (G1, G2 e G3). Os valores médios foram comparados pelo teste de

Student-Newman-Keuls adotando-se nível de 5% de probabilidade. Realizou-se a análise de correlação de Pearson entre pares de variáveis do proteinograma (Little & Hill 1978). Para análise dos dados, empregou-se o programa computacional *Statistical Analysis System* (SAS 2009). O trabalho obteve parecer favorável da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFRPE de acordo com a resolução 269/2007 do CEPE/UFRPE.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eletroforetograma: Foram identificadas 23 proteínas com pesos moleculares variando de 11.000 Da a 215.000 Da. Destas, oito (imunoglobulina A-IgA, imunoglobulina G - IgG de cadeia pesada (IgGCP), IgG de cadeia leve (IgGCL), lactoferrina, albumina, β -lactoglobulina, α -lactoalbumina e β -caseína) foram consideradas de interesse e submetidas à análise estatística.

As proteínas identificadas no colostro das ovelhas foram também verificadas por Rocha (2010) analisando o colostro de vacas da raça Canchim. Muitas destas proteínas foram relatadas no leite de ovelhas em diferentes fases da lactação por Lemos et al. (2013), no entanto, as concentrações durante toda a lactação, foram muito distintas, sendo a magnitude dos valores muito mais expressiva no colostro, destacando-se as concentrações das imunoglobulinas (IgA e IgG), da lactoferrina, da β -lactoglobulina e da α -lactoalbumina.

Ao avaliar a influência da suplementação durante a fase final da gestação sobre a concentração das proteínas presentes no colostro, verificou-se não haver diferença significativa entre os três grupos estudados ($P>0,05$), sendo desta forma, discutido os valores médios de cada uma das variáveis, conforme pode ser visualizado no Quadro 1.

Proteína total: Os valores médios da proteína total presente no colostro dos três grupos estudados foi de 17,31g/dL (Quadro 1), concentrações estas superiores às relatadas na espécie caprina por Rudovsky et al. (2008). As concentrações elevadas da proteína total no colostro são justificadas pela passagem, principalmente, de imunoglobulinas, particularmente IgG da corrente circulatória para a glândula mamária, podendo ser ratificado pela alta correlação positiva entre as concentrações da proteína total e as imunoglobulinas IgA ($r=0,86$, $P<0,0001$), IgGCL ($r=0,85$; $P<0,0001$) e a IgGCP ($r=0,74$, $P<0,0026$) (Quadro 2).

Akins et al. (2013) utilizando o método de imunodifusão radial simples, em vacas leiteiras suplementadas antes e após o parto com cobalto e vitamina B₁₂, através de cinco tratamentos distintos, não constataram efeito de grupo, semelhante a este estudo, no entanto a concentração proteica no colostro foi superior na vaca (23,54g/dL), quando comparado à ovelha (17,31g/dL), provavelmente pelo emprego de metodologias distintas.

Imunoglobulinas: O proteinograma permitiu verificar concentrações médias de 23,70mg/dL, 3973,16mg/dL e 4576,6mg/dL para as imunoglobulinas IgA, IgG (IgGCL) e IgG (IgGCP), respectivamente (Quadro 1). Entre as imunoglobulinas, verificou-se alta correlação positiva entre a IgGCP e a IgGCL ($r=0,74$; $P<0,0022$); a IgGCP e a IgA ($r=0,80$; $P<0,0006$); a IgGCL e a IgA ($r=0,79$; $P<0,0007$) (Quadro 2), ratificando a importância vital da IgG para os ruminantes recém natos, que nascem agamaglobulinêmicos (Indyk & Filonzi, 2003; Tizard 2013), sendo a IgG a proteína identificada em maior concentração no colostro das ovelhas, quando comparada a todas as outras observadas neste estudo. A concentração elevada das imunoglobulinas no colostro é resultante da transudação do plasma sanguíneo para o interior da glândula mamária, a fim de fornecer proteção necessária para os borregos. A IgG desempenha papel fundamental nos mecanismos de defesa dependentes de anticorpos, e por seu tamanho relativamente pequeno, pode sair dos vasos mais facilmente que outras classes de imunoglobulinas participando prontamente na defesa dos espaços teciduais e das superfícies corpóreas (Rudnik 2001). A IgA presente no colostro é resultante, cerca de cinquenta por cento, da circulação sanguínea, sendo de grande importância sua presença nos fluidos corpóreos, particularmente do trato gastrointestinal e respiratório atuando na defesa do recém nato frente aos agentes infecciosos, comuns nas primeiras semanas de vida (Tizard 2013).

A suplementação com cobalto três semanas antes do parto, conforme relatos de Boland et al. (2008), não influenciou a concentração de IgG presente no colostro de ovelhas, sendo verificada concentração média de 8600mg/dL desta classe de imunoglobulina, resultados estes semelhantes aos deste estudo. Em vacas os resultados foram divergentes, Akins et al. (2013) constataram que a suplementação com cobalto e vitamina B₁₂, não alteraram as concentrações de IgG e IgM de vacas, entretanto no trabalho de Kincaid & Socha (2007) a suplementação com cobalto aumentou a IgG do colostro de 3.725 mg/dL para 5.655mg/dL.

Lactoferrina: O valor médio da lactoferrina no colostro das ovelhas verificado entre os grupos ($P>0,6012$) foi de 614,80mg/dL, (Quadro 1), concentração esta superior a observada por Baroza (2007) no colostro de cabras e muito superior a verificada na secreção láctea de ovelhas (Lemos et al. 2013), o que é esperado, quando comparado ao leite, tendo em vista a grande importância desta glicoproteína presente em altas concentrações no colostro para o neonato, uma vez que faz parte da defesa natural, protegendo tanto a glândula mamária quanto o intestino do neonato frente à infecção (Robblee et al. 2003). A lactoferrina é a principal substância láctea que possui a capacidade de ligação com o ferro livre, e este por sua vez, é um dos elementos essenciais para o crescimento bacteriano. Atua como quelante do ferro, impedindo que as bactérias utilizem este

mineral, crucial para o seu metabolismo. Outra função importante desta proteína é que por se conjugarem a receptores existentes nas vilosidades intestinais, impedem a multiplicação de bactérias como a *Escherichia coli* (Weinberg 1978, Brock 1980).

Albumina: O valor médio da concentração da albumina no colostro foi de 898,53mg/dL, valores estes inferiores aos observados por Baroza (2007), contudo superiores aos verificados por Levieux et al. (2002), ambos em colostro de cabras. No colostro de vacas, estes valores são ainda mais baixos quando comparados aos animais da espécie caprina, conforme verificados por Levieux & Ollier (1999) e Sant'ana (2004). Os valores observados de albumina podem ser explicados pela permeabilidade capilar aumentada no úbere próximo ao parto, uma vez que esta proteína participa no transporte de ácidos graxos, bilirrubina, algumas drogas, além de cátions e minerais como, cálcio, cobre e zinco (Jain 1993), resultando na passagem aumentada dos componentes sanguíneos para a glândula mamária (Östenson 1993).

β -caseína: O valor médio da β -caseína entre os grupos foi de 106,26mg/dL, inferior ao observado por Sant'ana (2004). As concentrações mais elevadas da β -caseína não são encontradas no colostro e sim, durante a fase média e final da lactação (Sant'ana 2004). Valores elevados verificados no colostro são decorrentes do seu armazenamento na glândula mamária durante o período seco (Larson & Kendall 1957), tendo em vista o seu papel no fornecimento do suprimento proteico ao recém-nascido, como também a produção de peptídeos ativos, que estimulam a atividade fagocítica dos macrófagos e devem ser capazes de atuar na proliferação e maturação de células T e células *natural killer* para a defesa do neonato contra ampla variedade de bactérias, particularmente as entéricas (Migliore-Samour & Jollés 1988).

β -lactoglobulina: Observou-se no colostro de ovelhas valor médio de β -lactoglobulina de 5.572,16mg/dL, concentração esta superior ao relatado por Levieux et al. (2002), Baroza (2004) e Levieux & Ollier (1999) em colostro de vacas e cabras. Perez et al. (1990), trabalhando com colostro de ovelhas, observaram concentração de 1.730mg/dL, diminuindo acentuadamente nas primeiras 24h após o parto e de forma mais gradativa, nas duas primeiras semanas de lactação, chegando a atingir 20% do valor inicial. Valores elevados da β -lactoglobulina são frequentemente verificados na primeira e última fases da lactação, conforme relatado por Levieux & Ollier (1999), Levieux et al. (2002) e Lemos et al. (2013). A diferença da concentração desta variável observada neste estudo, quando comparada a concentração relatada por Perez et al. (1990) pode estar relacionada a metodologia empregada, em que as proteínas foram mensuradas pela imunoelektroforese quantitativa. Apesar das funções desta proteína não serem totalmente conhecidas, tem sido sugerido possuir a capacidade de inibição da aderência bacteriana tanto para as proteínas intestinais como para o epitélio gastrointestinal dos mamíferos, ser fonte de aminoácidos e retinol, transporte de ácidos graxos e auxílio na digestão lipídica (Reddy et al. 1988, Perez et al. 1990).

Outra função referente a esta proteína é a sua importância na transferência de imunidade passiva, juntamente com as imunoglobulinas (Perez et al. 1990), conforme verificado pela alta correlação positiva ($r=0,92$; $P<0,0001$) entre a proteína total e a β -lactoglobulina (Quadro 2), como constatado por Rocha (2010). Esta alta correlação está diretamente relacionada aos valores elevados da concentração da β -lactoglobulina no colostro, sendo neste estudo inferior apenas às imunoglobulinas de classe IgG (Quadro 1), como verificado no trabalho de Levieux et al. (2002), em que constataram o mesmo comportamento no colostro de cabras (IgG de 47,3mg/mL e β -lactoglobulina de 20,7 mg/mL). Em decorrência desta função da β -lactoglobulina, ela está presente nos produtos que utilizam colostro como ingrediente para fornecer imunidade ao recém-nascido (Sutton & Alston-Mills 2006).

α -lactoalbumina: A concentração média desta variável no colostro foi de 1.008,81 mg/dL, estando inferior aos valores verificados por Baroza (2007) e superiores aos relatados por Levieux & Ollier (1999), Levieux et al. (2002) e Sant'ana (2004) no colostro de vacas e cabras. Na espécie ovina, Perez et al. (1990), trabalhando com colostro, observaram também concentrações inferiores, que decresceu na segunda semana de lactação, chegando a cerca de 70% do valor inicial. A concentração desta proteína mais elevada no colostro pode ser justificada por sua importância como fonte proteica para o neonato (Rocha et al. 2009). Por ser uma metaloproteína, é fisiologicamente importante na síntese da lactose, facilitando a produção e a secreção do leite. Os cátions divalentes dos ligamentos da α -lactoalbumina (Ca^{2+} , Zn^{2+}) facilitam a absorção de minerais essenciais. Durante sua digestão, seus peptídeos com propriedades antibacterianas e imunoestimulatórias, auxiliam na proteção contra infecções, auxiliando na proteção do neonato (Stănciuc & Râpeanu 2010).

CONCLUSÃO

A administração do propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂, na fase final da gestação das ovelhas, não influencia a concentração das imunoglobulinas A-IgA, imunoglobulina G - IgG de cadeia pesada (IgGCP), IgG de cadeia leve (IgGCL), lactoferrina, albumina, β -lactoglobulina, α -lactoalbumina e β -caseína identificadas no colostro. Em decorrência da escassez de trabalhos relacionados ao tema, os dados coletados servirão como valores de referência para este protocolo utilizado, para futuras pesquisas na espécie ovina.

Agradecimentos: À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Akins M.S., Bertics S.J., Socha M.T. & Shaver R.D. 2013. Effects of cobalt supplementation and vitamin B₁₂ injections on lactation performance and metabolism of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(3): 1755-1768.
- Afonso J.A.B. 2006. Toxemia da prenhez. *Jornal do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Pernambuco: Veterinária e Zootecnia, CRMV-PE*, 26: p.7.
- Baroza P.F.J. 2007. Proteínas, enzimas e minerais na secreção lacteal de cabras e vacas, nos primeiros 30 dias pós-parto, congelada ou não. *Dissertação de Mestrado em Clínica Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP*. 113f.
- Boland T.M., Hayes L., Sweeney T., Callan J.J., Baird A.W., Keely S. & Crosby T.F. 2008. The effects of cobalt and iodine supplementation of the pregnant ewe diet on immunoglobulin G, vitamin E, T₃ and T₄ levels in the progeny. *Animal*, 2(2):197-206.
- Bolzan G.N., Antunes M.M., Schwegler E., Pereira R.A & Corrêa M.N. 2010. 6f. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária – Universidade Federal de Pelotas. Disponível em: www.ufpel.edu.br/nupeec. Acesso em 16 dez. 2013.
- Borges F.B. 2003. Uso de niacina na alimentação de vacas de alta produção. Disponível em: www.zootec.com.br/niacina.htm. Acesso em: 28 abr. 2007.
- Brock J.H. 1980. Lactoferrin in human milk: its role in iron absorption and protection against enteric infection in the newborn infant. *Archives of Disease in Childhood*, 55: 417-421.
- Chiofalo V., Todaro M., Liotta L., Margiotta S., Manzo T. & Leto G. 2005. Effect of propylene glycol on pré- and postpartum performance by dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 58: 107-114.
- Duncan W.R.H., Morrison E.R. & Garton G.A. 1981. Effects of cobalt deficiency in pregnant and pos-parturient ewes and their lambs. *British Journal of Nutrition*, 46: 337-344.
- Fagliari J.J. & Silva S.L. 2002. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hígdos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54 (6): 559-586.
- Indyk H.E. & Filonzi E.L. 2003. Determination of Immunoglobulin G in Bovine Colostrum and Milk by Direct Biosensor SPR-Immunoassay. *Journal of AOAC International*, 86 (2):386-393.
- Jain N.C. 1993. *Essentials of veterinary hematology*, Philadelphia: Lea & Febiger, 417p.
- Kincaid R.L. & Socha M.T. 2007. Effect of cobalt supplementation during late gestation and early lactation on Milk and serum measures. *Journal of Dairy Science*, 90(4): 1880-1886.
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.
- Larson B.L. & Kendall K.A. 1957. Protein production in the bovine daily production of the specific milk proteins during the lactation period. *Journal of Dairy Science*. 40 (3) :377-386.
- Lemos V.L., Guaraná E.L.S., Afonso J.A.B., Fagliari J.J., Silva P.C., Soares & Mendonça C.L. 2013. Proteinograma do soro lácteo de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases de lactação *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33: 807-812.
- Levieux D., Morgan F., Geneix N., Masle I. & Bouvier F. 2002. Caprine immunoglobulin G, β -lactoglobulin, α -lactalbumin and serum albumin in colostrums and milk during the early post partum period. *Journal of Dairy Research*, 69: 391-399.
- Levieux D. & Ollier A. 1999. Bovine immunoglobulin G, β -lactoglobulin, α -lactalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post partum period. *Journal of Dairy Research*. 66: 421-430.
- Little T.M. & Hill F.J. 1978. *Agricultural experimentation – Design and Analysis*. John Wiley & Sons, New York, 350p.
- Migliore-Samour D. & Jollès P. 1988. Casein, a prohormone with an immunomodulating role for the newborn? *Experientia*, 44: 188-193.
- Nielsen N.I. & Ingvarsten K.L. 2004. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed and Technology*. v.115: 191-213.
- Nowak R. & Poindron P. 2006. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. *Reproduction, Nutrition, Development*, 46 (4): 431-46.
- National Research Council – NRC. 2007. *Nutrient requirements of sheep*. 7ed. Washington D.C: National Academy Press, 384p.

- Östensson K. 1993. Variations during lactation in total and differential leukocyte counts, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, antitrypsin and serum albumin in foremilk and residual milk from non-infected quarters in the bovine. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 34 (1): 83-93.
- Perez M.D., Sanchez L., Aranda P., Ena J.M., Oria R. & Calvo M. 1990. Synthesis and evolution of concentration of β -lactoglobulin and α -lactalbumin from cow and sheep colostrums and milk throughout early lactation. *Cellular and Molecular Biology*, 36 (2): 205-212.
- Reddy M., Kella N.K.D. & Kinsella J.E. 1988. Structural and conformational basis of the resistance of β -lactoglobulin to peptic and chymotryptic digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36: 737-741.
- Robblee E.D., Erickson P.S., Whitehouse N.L., McLaughlin A.M., Schwab C.G., Rejman J.J. & Rompala R.E. 2003. Supplemental lactoferrin improves health and growth of Holstein calves during the preweaning phase. *Journal of Dairy Science*, 86 (4): 1458-1464.
- Rocha T.G., Franciosi C., Nociti R.P., Silva P.C., Sampaio A.A.M. & Fagliari J.J. 2009. Eletroforetograma das proteínas do soro lácteo de vacas Canchim primíparas e pluríparas. *Ciência Animal Brasileira*, suppl. 1. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, 220-225p.
- Rocha T.G. 2010. Avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros de vacas da raça Canchin. Dissertação de Mestrado em Clínica Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 108f.
- Rudnik L. Imunologia molecular. 2001. 19f. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <www6.ufrgs.br/bioquímica/posgrad/BTA/imunologia.pdf> Acesso em: 27 março 2013.
- Rudovsky A., Locher L., Zeyner A., Sobiraj A. & Wittek T. 2008. Measurement of immunoglobulin concentration in goat colostrum. *Small Ruminant Research*. 74: 265-269.
- Sant'ana V.A.C. 2004. Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, SP. 161f.
- Santos R.A., Campos A.G.S.S., Afonso J.A.B., Soares P.C. & Mendonça C.L. 2012. Efeito da administração de propileno glicol e cobalto associado à vitamina B12 sobre o perfil metabólico e a atividade enzimática de ovelhas da raça Santa Inês no periparto. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32 (Supl.1): 60-66.
- Stănciuc N. & Râpeanu G. 2010. An overview of bovine α -lactalbumin structure and functionality. *Food Technology*, 34 (2): 82-93.
- Statistical Analyses System Institute 2009. SAS User's Guide: Statistics version. Cary, New York.
- Sutton L.F. & Alston-Mills B. 2006. B-lactoglobulin as a potential modulator of intestinal activity and morphology in neonatal piglets. *The Anatomical Record*, part A, 288A:601-608.
- Tizard I.R. 2013. Immunity in the fetus and newborn. In: ___ *Veterinary Immunology*. St. Louis: Elsevier Saunders, p.225-239.
- Weinberg E.D. 1978. Iron and Infection. *Microbiological Reviews*, 42(1): 45-66.

Quadro 1 – Medidas de tendência central das proteínas identificadas no colostro de ovelhas submetidas à administração de propileno glicol, cobalto associado à vitamina B₁₂ e o grupo controle no final da gestação.

| | | Controle | Co + Vit. B ₁₂ | Propileno glicol | Média Geral (x) | P |
|--------------------------|------|----------------------|---------------------------|----------------------|-----------------|--------|
| Proteína Total (g/dL) | x | 19,33 ^a | 15,33 ^a | 17,27 ^a | 17,31 | 0,6191 |
| | s | 5,75 | 6,77 | 4,12 | | |
| | Md | 19,32 | 16,49 | 18,12 | | |
| | Sup. | 25,08 | 23,46 | 21,00 | | |
| | Inf. | 13,58 | 3,62 | 10,56 | | |
| Lactoferrina (mg/dL) | x | 700,37 ^a | 685,08 ^a | 458,96 ^a | 614,80 | 0,6012 |
| | s | 274,39 | 535,80 | 218,94 | | |
| | Md | 601,90 | 713,90 | 583,30 | | |
| | Sup. | 1010,40 | 1255,90 | 663,60 | | |
| | Inf. | 488,80 | 99,50 | 214,30 | | |
| Albumina (mg/dL) | x | 1273,53 ^a | 745,43 ^a | 676,62 ^a | 898,53 | 0,2816 |
| | s | 791,70 | 504,36 | 304,41 | | |
| | Md | 908,50 | 749,00 | 689,50 | | |
| | Sup. | 2181,90 | 1351,20 | 1000,20 | | |
| | Inf. | 730,20 | 181,00 | 352,80 | | |
| IgA (mg/dL) | x | 27,03 ^a | 23,33 ^a | 20,73 ^a | 23,70 | 0,6059 |
| | s | 8,21 | 9,14 | 7,60 | | |
| | Md | 30,90 | 23,65 | 23,10 | | |
| | Sup. | 32,60 | 35,10 | 28,90 | | |
| | Inf. | 17,60 | 9,05 | 8,40 | | |
| IgGCL (mg/dL) | x | 4362,43 ^a | 3534,98 ^a | 4022,08 ^a | 3973,16 | 0,7737 |
| | s | 1453,83 | 2131,54 | 1088,51 | | |
| | Md | 4192,40 | 3665,05 | 3913,90 | | |
| | Sup. | 5893,80 | 6733,00 | 5523,00 | | |
| | Inf. | 3001,10 | 459,70 | 2766,70 | | |
| IgGCP (mg/dL) | x | 4903,23 ^a | 3726,0 ^a | 3923,34 ^a | 4576,6 | 0,6453 |
| | s | 1003,39 | 1003,39 | 1198,85 | | |
| | Md | 5100,40 | 5100,40 | 4408,80 | | |
| | Sup. | 5793,40 | 5793,40 | 5309,10 | | |
| | Inf. | 3815,90 | 3815,90 | 2625,00 | | |
| β-caseína (mg/dL) | x | 82,77 ^a | 155,22 ^a | 80,80 ^a | 106,26 | 0,4282 |
| | s | 44,12 | 131,47 | 73,10 | | |
| | Md | 71,90 | 135,90 | 58,10 | | |
| | Sup. | 131,30 | 312,60 | 210,00 | | |
| | Inf. | 45,10 | 13,00 | 32,60 | | |
| β-lactoglobulina (mg/dL) | x | 6864,13 ^a | 4353,18 ^a | 5499,16 ^a | 5572,16 | 0,1495 |
| | s | 2439,64 | 1591,41 | 1296,63 | | |
| | Md | 6704,00 | 4542,55 | 6090,00 | | |
| | Sup. | 9379,90 | 6169,90 | 6733,40 | | |
| | Inf. | 4508,50 | 1513,10 | 3442,50 | | |
| α-lactoalbumina (mg/dL) | x | 912,47 ^a | 771,85 ^a | 1342,12 ^a | 1008,81 | 0,3877 |
| | s | 233,02 | 339,84 | 1025,64 | | |
| | Md | 940,50 | 677,70 | 630,50 | | |
| | Sup. | 1130,20 | 1430,10 | 2646,00 | | |
| | Inf. | 666,70 | 448,80 | 543,40 | | |

Letras iguais na mesma linha não diferem ao nível de 5 % de probabilidade. X - Média; s - Desvio-padrão; Md - Mediana; Sup.- Limite Superior; Inf.- Limite Inferior.

6.3- ARTIGO 3

Proteinograma do soro sanguíneo e hemograma de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação²

Anne Grace Silva Siqueira Campos^{2*}, Rogério Adriano dos Santos², José Augusto Bastos Afonso³, Pierre Castro Soares⁴, José Jurandir Fagliari⁵, Paulo César Silva⁵, Carla Lopes de Mendonça³

ABSTRACT: Campos A.G.S.S., Santos R.A., Afonso J.A.B., Soares P.C, Fagliari J.J. & Mendonça C.L., 2014. [Proteinogram of blood serum and hemogram of lambs whose mothers were supplemented with propylene glycol and cobalt associated with vitamin B₁₂ in late pregnancy]. Proteinograma do soro sanguíneo e hemograma de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação. *Pesquisa Veterinária Brasileira*..... Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor s/n, Boa Vista, Garanhuns, C.P.152, 55.292-570, Garanhuns, PE, Brazil. E-mail: annegracevet@yahoo.com.br

This study aimed to evaluate the proteinogram of blood serum and the hemogram of lambs whose mothers were supplemented with propylene glycol and cobalt associated with vitamin B₁₂ in late pregnancy. For this purpose, 23 lambs born from 18 Santa Inês sheeps, which were separated randomly, approximately 30 days before delivery in three experimental groups, as follows: (G1/n =6) group received propylene glycol (30mL daily oral doses), (G2/n =6) which received cobalt (1 mg daily oral doses of cobalt chloride 1%) associated with vitamin B₁₂ (2mg intramuscular weekly) and (G3/n=6) control group. Blood samples for the evaluation of the lambs hemograms were performed in nine experimental periods (at birth (0h) 24h, 48h, 72h, seven days, 15 days, 30, 60 and 90 days of age), while the serum ones were performed on 11 experimental periods, where 6h and 12h were added to of the periods mentioned above. The hemogram consisted of the completion of the erythrogram and leukogram, along with the measurement of plasma fibrinogen and serum levels of acute phase proteins were determined by electrophoresis in polyacrylamide gel containing sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE). In the hematological response it was found influence of cobalt administration associated with vitamin B₁₂ in late pregnancy on the increase in erythrocyte parameters of lambs, and the belated reversal of the neutrophil ratio: lymphocyte. The administration of the supplements did not affect the transfer of passive immunity considered moderate to good for the lambs, as well as the dynamics of the proteinogram, where the latter was influenced by age factor, particularly by higher protein ceruloplasmin, α₁ - acid glycoprotein, α₁ - antitrypsin and transferrin in the first two weeks of life.

INDEX TERMS : SDS-PAGE, lambs, supplements, immunoglobulins, hematologic response

RESUMO: Este trabalho teve por objetivo avaliar o proteinograma do soro sanguíneo e o hemograma de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação. Para este propósito, foram utilizados 23 borregos nascidos das 18 ovelhas da raça Santa Inês, as quais foram separadas de maneira aleatória, aproximadamente 30 dias antes do parto, em três grupos experimentais, conforme a seguir: (G1/n=6) grupo que recebeu propileno glicol (30mL por via oral diariamente); (G2/n=6) grupo que recebeu cobalto (1mg de cloreto de cobalto a 1%, via oral diariamente) associado à vitamina B₁₂ (2mg via intramuscular semanalmente) e (G3/n=6) grupo controle. As amostras de sangue dos cordeiros para a avaliação do hemograma foram realizadas em nove momentos experimentais (ao nascimento (0h), às 24h, 48h, 72h, sete dias, 15 dias, 30, 60 e 90 dias de vida), enquanto que as de soro foram realizadas em 11 momentos experimentais, sendo acrescidas as 6h e 12h dos momentos referidos acima. O hemograma consistiu da

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, 52171-030, PE, Brasil

³ Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor, s/n, Boa Vista, Garanhuns, C.P.152, 55292-570, Garanhuns, PE, Brasil.

⁴ Depto de Medicina Veterinária, UFRPE, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, 52171-030, PE, Brasil.

⁵ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de Jaboticabal, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil.

realização do eritrograma e leucograma, juntamente com a mensuração do fibrinogênio plasmático e a dosagem sérica das proteínas de fase aguda foram determinadas pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Na resposta hematológica constatou-se haver influência da administração de cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação sobre a elevação dos parâmetros eritrocitários dos cordeiros, bem como a inversão tardia da relação neutrófilo:linfócito. A administração dos suplementos não influenciou a transferência da imunidade passiva considerada de moderada a boa nos cordeiros, assim como a dinâmica do proteinograma, sendo este influenciado pelo fator etário, particularmente pela elevação das proteínas ceruloplasmina, α 1-glicoproteína ácida, α 1-antitripsina e transferrina nas primeiras duas semanas de vida.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Eletroforese, borregos, suplementos, imunoglobulinas, resposta hematológica.

INTRODUÇÃO

As exigências produtivas, impostas nos sistemas de criação mediante o melhoramento genético e o manejo intensivo, têm aumentado o risco e a incidência de desequilíbrios nutricionais e distúrbios metabólicos, podendo tanto acarretar a perda de matrizes de alto valor genético, como comprometer o potencial de produtividade de suas crias, inclusive com a ocorrência de óbitos, representando uma das principais causas de perdas na ovinocultura (Oliveira 2000).

Nas ovelhas a demanda de nutrientes aumenta durante a gestação, particularmente nas últimas seis semanas, quando o feto se desenvolve alcançando aproximadamente 70% do seu crescimento, período em que a fêmea tenta equilibrar a deficiência de energia mobilizando suas reservas corporais para compensar o déficit (Russel 1991).

A administração de suplementos gliconeogênicos no final da gestação de ovelhas é prática frequente na ovinocultura, visando prevenir os distúrbios metabólicos comumente desencadeados neste período. Dentre os precursores da glicose, destaca-se o propileno glicol, responsável por aumentar os níveis de glicose e insulina, como também deprimir a liberação de ácidos graxos não esterificados (Rings 1985, Castañeda-Gutiérrez et al 2009, Chiofalo et al. 2009). Vacas, ovelhas e cabras recebendo este componente apresentaram proporção significativamente mais elevada de propionato, indicando metabolização substancial deste precursor de glicose intraruminal (Nielsen & Ingvarstsen 2004, Chiofalo et al. 2009), sendo atribuído a este composto a melhor performance produtiva de cordeiros ao nascimento, cujas mães foram suplementadas no último mês de gestação (Chiofalo et al., 2005). O cobalto é empregado na alimentação de fêmeas gestantes por ser importante microelemento utilizado pela microflora do rúmen para a síntese de vitamina B₁₂, que por sua vez é coenzima essencial no metabolismo do ácido propiônico, na gliconeogênese, na geração de energia e na formação da hemácia. Ambos os suplementos são imprescindíveis para o desempenho produtivo do rebanho, interferindo no processo de mobilização das reservas energéticas e de gordura, neste período crítico para o animal, que precede o parto e início da lactação (Duncan et al. 1981, Borges 2003, Afonso 2006).

Este estudo teve por finalidade avaliar as alterações hematológicas e a dinâmica do proteinograma de cordeiros do nascimento aos 90 dias de idade cujas mães foram submetidas à administração de propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no último mês de gestação.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais/alimentação/avaliação clínica: Foram avaliados 23 cordeiros, machos e fêmeas, distribuídos em três grupos G1 (n=8), G2 (n=7) e G3 (n=8) cujas mães (n=18) foram submetidas à administração dos suplementos 30 dias antes da data prevista para o parto, conforme a seguir: Grupo 1 (G1/n=6): 30mL de propileno glicol P.A. (Propileno glicol P.A., Vetec Química Fina Ltda) via oral diariamente (Pearson & Mass 2002); Grupo 2 (G2/n=6): 1mg de cloreto de cobalto em solução a 1% via oral diariamente e 2mg de vitamina B₁₂ (Monovin B12 Lab. Bravet Ltda) via intramuscular semanalmente (NRC 1985) e Grupo 3 (G3/n=6): grupo controle.

Todas as ovelhas (mães) foram submetidas ao acompanhamento clínico diário (Diffay et al. 2004) no decorrer do experimento, tendo a alimentação constituída de capim elefante (*Pennisetum purpureum*), tifton (*Cynodom sp.*), aproximadamente 400g/animal/dia de concentrado (40% farelo de soja, 56,6% milho triturado, 2,8% fosfato bicálcico e 0,6% sal comum), sal mineral (Ovinofós®, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária) e água ad libitum. Foram vermifugadas (moxidectina 0,2%, Cydectin oral, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Division of Wyeth) e vacinadas (Covexin 9®, Coopers Brasil Ltda). O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transabdominal empregando transdutor convexo de 3,5 MHz (Ultrassom GE, modelo Logic 100 PRO) e todos os partos tiveram acompanhamento técnico especializado

Os cordeiros, logo após o nascimento, foram impedidos momentaneamente de mamar o colostro para que fosse realizada a primeira colheita do sangue, logo em seguida mamaram à vontade e foram mantidos permanentemente com suas mães. Durante o período experimental, os cordeiros foram observados clinicamente (Gay 2002) e criados sob manejo intensivo em aprisco de experimentação. No décimo dia de vida foi introduzido gradativamente concentrado (Ovinotech®) indicado para cordeiros e feno de tifton fornecidos em creep-feeding.

Momentos experimentais: Para avaliação hematológica foram estabelecidos nove momentos experimentais, 0h (ao nascimento, antes da ingestão do colostro), 24h, 48h, 72h, 7 dias, 15 dias, 30 dias, 60 dias e 90 dias de idade e para a avaliação das proteínas identificadas no perfil eletroforético, além dos momentos citados acima foram incluídos mais dois momentos, às 6h e 12h após o nascimento.

Colheita das amostras: As amostras de sangue foram colhidas mediante punção da veia jugular com agulha 25x8mm, adequadas para tubos à vácuo, com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético, sal dissódico) a 10%, para a realização do hemograma, e em tubos sem anticoagulante para a obtenção do soro e realização do proteinograma. Os soros livres de hemólise, após centrifugação, foram separados, armazenados em tubos de polietileno, tipo Eppendorf e mantidos em ultrafreezer a -80°C (Ultralow freezer NuAire Inc.).

Processamento das amostras: O hemograma e a determinação do fibrinogênio plasmático foram realizados seguindo as recomendações de Jain (1986) empregando-se os critérios relacionados à espécie ovina. A concentração da proteína total no soro sanguíneo foi determinada pelo método colorimétrico de ponto final por reação do biureto (Labtest Diagnóstica S.A). A separação das proteínas foi realizada utilizando-se a técnica de eletroforese em gel de poli(acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) utilizando o sistema vertical de eletroforese, conforme descrito por Laemmli (1970) e Fagliari & Silva (2002). Para a identificação das frações proteicas foi empregada como referência solução marcadora (Sigma-Aldrich Corporation 3050 Spruce Street. St. Louis MO 63103, Missouri, USA) com pesos moleculares variando de 6.500 a 200.000 Daltons (Da), além das proteínas purificadas albumina, imunoglobulina IgG, haptoglobina, α 1 antitripsina e transferrina. Após o fracionamento, o gel foi corado durante dez minutos em solução de azul de coomassie, constituída de metanol (50%), água (40%), ácido acético glacial (9,75%) e azul de coomassie (0,25%). Em seguida, o gel foi colocado em solução de ácido acético a 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações proteicas se apresentassem nítidas. A determinação dessas concentrações foi obtida por densitômetro computadorizado (Shimadzu CS 9301, Japan).

Análise estatística. Os dados foram organizados por medidas de tendência central (média e desvio-padrão) e submetidos à análise de variância (Teste F) que separou como causa de variação os efeitos de grupos, de momentos e suas interações. Nos casos em que houve significância no teste F as médias dos fatores foram comparadas pelo Teste de Student-Newman-Keuls (SNK). Os parâmetros hematimétricos: bastonetes, eosinófilos, monócitos e basófilos, foram submetidos à transformação radical de $x+1$. Em relação ao proteinograma, os parâmetros IGGTotal, IGGCP, IGGCL e PM23000 foram transformadas logarítmica (\log_{10}), por não ter atendido à premissa de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnof. Para o proteinograma, efetuou-se, adicionalmente, análise de correlação de Pearson para verificar o grau de correlação entre pares de variáveis do proteinograma, segundo Little & Hill (1978). Utilizou-se, para análise dos dados, o programa computacional Statistical Analysis System (SAS 2009), utilizando-se o procedimento GLM (General Linear Model) do SAS. Para todas as análises estatísticas realizadas foi adotado o nível de significância (p) de 5%. O modelo utilizado para ANOVA foi o seguinte: $Y_{ij} = G + M + GM + E_{ij}$, onde: Y_{ij} = valor observado; G = efeito dos grupos; M = efeito dos momentos; GM = interação Grupos e Momentos; E_{ij} = erro.

Aprovação no comitê de ética. O trabalho obteve parecer favorável da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFRPE de acordo com a resolução 269/2007 do CEPE/UFRPE, estando de acordo com as normas sugeridas pelo COBEA e com as normas internacionais estabelecidas pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação clínica – Dos 23 cordeiros estudados, 11 (47,82%) nasceram de parto simples e 12 (52,17%) de parto gemelar. De modo geral os cordeiros ao nascimento apresentaram-se saudáveis, alguns menos ativos que outros, principalmente os provenientes de parto gemelar, no entanto todos apresentaram o reflexo de sucção, permaneceram em estação e ingeriram colostro, no máximo, até a primeira hora de vida após o nascimento. Durante os 90 dias de acompanhamento, alguns cordeiros apresentaram problemas respiratórios nas primeiras semanas de vida, sendo tratados, sem maiores complicações, visto que o apetite foi mantido e não foi observado diferença na performance em relação aos demais, isto provavelmente ocorreu decorrente do nascimento de alguns cordeiros no inverno, período mais frio na região. A ingestão do colostro na primeira hora após o nascimento contribuiu para higidez dos animais nos primeiros dias de vida, estando estes achados de acordo com Nunes (2006) e Turquino (2010), que estudaram o comportamento de cordeiros recém-nascidos da raça Santa Inês e mestiços Texel, respectivamente e observaram que aqueles nascidos com boa vitalidade demoraram menos de uma hora após o nascimento para mamar o colostro. Segundo Nowak et al. (1997), a rápida reação do cordeiro em se levantar e tentar mamar o mais cedo possível é o seu primeiro aprendizado e um excelente indicador de saúde e sobrevivência, sendo o ato de sucção fator fundamental para o estabelecimento do vínculo entre a ovelha e o cordeiro.

Hemograma: Os fatores de variação, o valor de F da análise de variância e o nível de P das variáveis hematológicas podem ser visualizados no Quadro 1.

Verificou-se variação significativa entre grupos para as variáveis, volume globular (VG) ($P < 0,0001$), contagem total de hemácias (He) ($P < 0,0001$) e concentração de hemoglobina (Hb) ($P < 0,0001$), entre os quais o grupo suplementado com cobalto associado à vitamina B₁₂ apresentou os maiores valores médios, conforme pode ser observado no quadro 3 e figura 1, referente ao volume globular. Os valores elevados no grupo G2, em relação aos demais (G1 e G3), se deveram pela suplementação com cobalto associado à vitamina B₁₂ fornecida às mães durante os 30 dias que antecedeu ao parto, refletindo diretamente nas suas crias. Sharmin et al. (2004) e Islam et al. (2005) realizaram a suplementação de ovelhas com alguns componentes, dentre eles o cobalto, e verificaram a elevação das variáveis que compõem o eritrograma, ratificando o seu efeito positivo na eritropoiese, uma vez que o cobalto é um dos constituintes essenciais da hemoglobina e a vitamina B₁₂ ajuda na maturação dos eritrócitos. Em outro trabalho, com bezerros em fase de crescimento, Stangl et al. (2000) constataram elevação na concentração do VG e Hb após fornecer maior quantidade de cobalto diretamente na dieta.

Na avaliação do eritrograma foi constatado haver diferença ($P < 0,0500$) entre os grupos como entre os momentos ($P < 0,0500$), caracterizando haver influência do fator etário nos primeiros três meses de vida dos cordeiros. Quanto aos momentos experimentais, é notório o decréscimo nos valores médios do volume globular ($P < 0,0001$), na contagem de hemácias ($P < 0,0001$) e na concentração de hemoglobina ($P < 0,0001$) após o nascimento até as duas primeiras semanas de vida, se elevando gradativamente a partir de um mês de idade (Quadro 3, Fig. 1), no entanto, encontrando-se de acordo com os resultados obtidos por Ullrey et al. (1965) e Gama et al. (2007), que também verificaram este decréscimo nos valores médios destas variáveis nos primeiros 15 dias de vida, atribuindo os valores abaixo do considerado normal para a espécie como “anemia fisiológica”, justificada como consequência da rápida expansão do volume plasmático devido ao consumo do colostro, intensa metabolização de eritrócitos fetais, inadequada produção e renovação destas células, bem como pela baixa taxa de eritropoietina associado à alta tensão de oxigênio, pela baixa meia vida dos eritrócitos fetais e pelo baixo suprimento nutricional, em particular de ferro (Tennant et al. 1974, Adams et al. 1992, Jain 1993). Com relação à hemoglobina, Baranowski et al. (1999) verificaram decréscimo na sua concentração em 50 cordeiros, estando associado ao declínio da hemoglobina fetal, substituída pela síntese da hemoglobina adulta, entre a segunda e terceira semana de vida.

Quanto ao VCM ($P > 0,0600$) e o CHCM ($P > 0,7759$) não foi observado efeito de grupo, no entanto o efeito de momento foi verificado apenas para o VCM ($P < 0,0001$) (Quadro 1, Quadro 3 e Fig. 2), onde observa-se o decréscimo nos valores médios desta variável após o nascimento nas primeiras duas semanas de vida para posteriormente se estabilizar, muito embora permanecesse em todos os momentos situados numa faixa considerada de normalidade para ovinos e de acordo com o observado por Rocha (2010). Esta diminuição está diretamente relacionada ao decréscimo nos valores concomitantes do volume globular, da contagem de hemácias e da concentração de hemoglobina observado nos cordeiros neste mesmo período, caracterizando estes resultados a normocitose e a normocromia.

Na análise do leucograma dos cordeiros, observa-se que não houve efeito de grupo para a contagem total de leucócitos ($P > 0,3438$) tendo comportamento similar entre os três grupos estudados no decorrer do período experimental, no entanto verificou-se efeito de momento ($P < 0,0001$), sendo observado nas primeiras 24h de vida elevação expressiva na contagem total de leucócitos, aumento este que se deu paralelamente ao aumento do número absoluto de linfócitos e particularmente de neutrófilos. Chama atenção para os valores médios mínimos da contagem global de leucócitos (3.819,6/ μ L) observados logo após o nascimento antes da ingestão do colostro. Ao observar o comportamento dos leucócitos verifica-se após as 48 horas de vida dos cordeiros elevação gradativa da contagem destas células até os noventa dias de idade, atingindo valores médios máximo de 10.019Leuc/ μ L (Quadro 4 e Fig 3), estando os valores de acordo com os observados por Ullrey et al. (1965) e Ayres et al. (2009). Na análise da contagem diferencial destaca-se o comportamento dos linfócitos e neutrófilos, sendo constatado em ambos, efeito de momento ($P < 0,0001$) e apenas na contagem de linfócitos o efeito de grupo ($P < 0,0111$), apresentando o grupo suplementado com propileno glicol os menores valores médios de linfócitos (2.777,1/ μ L), os quais já foram verificados desde às 48h de vida neste grupo, não sendo evidenciado efeito da suplementação sobre essa variável, assim como apresentam os valores situados dentro da faixa de normalidade para a espécie estudada (Byers & Kramer 2010).

Nas primeiras 24 horas de vida verifica-se elevação significativa na contagem de linfócitos e neutrófilos, sendo mais expressiva nos valores médios dos neutrófilos, que logo em seguida às 48 horas, sofre leve decréscimo e começa a se elevar novamente a partir das 72h até aproximadamente os 60 dias de observação, momento em que começa a decrescer a contagem absoluta de neutrófilos. Quanto aos linfócitos, observa-se que após a elevação da contagem destas células nas primeiras 24 horas, verifica-se estabilização na contagem absoluta que irá se elevar significativamente a partir dos 60 dias e 90 dias de observação (Quadro 4, Figs. 4 e 5). Vale salientar que a inversão da relação neutrófilo:linfócito nos cordeiros ocorreu aos 90 dias de idade, quando se verificou um predomínio de linfócitos sobre neutrófilos.

Os valores mais elevados dos neutrófilos, observados inicialmente (24h), são justificados por Adams et al. (1992) serem decorrentes do efeito da ação de glicocorticoides endógenos no momento do parto, refletindo sobre os cordeiros, enquanto que a elevação da contagem absoluta de linfócitos, estaria relacionada segundo Le

Jan (1996) e Souza (2012) ao recebimento direto de linfócitos T, e em menor quantidade de linfócitos B, além de outras células através do colostro. Apesar destes achados, verificou-se que os valores encontravam-se em conformidade com os observados por Ullrey et al. (1965) e Ayres et al. (2009) para ambos os tipos de leucócitos. Quanto ao período de inversão da contagem absoluta entre linfócitos e neutrófilos, este trabalho difere dos resultados obtidos por Silva (2007), que verificou predomínio de linfócitos sobre os neutrófilos aos 30 dias de vida de cordeiros mestiços, semelhantemente aos resultados obtidos por Ayres et al. (2009), trabalhando com caprinos, cuja inversão neutrófilo:linfócito ocorreu aos 37 dias, ou seja mais precocemente que o observado neste estudo. Vale ressaltar que este comportamento na espécie ovina diverge do observado nos bovinos, nos quais esta inversão ocorre muito mais precoce, entre sete a quinze dias de vida do bezerro (Jain 1993, Biondo et al. 1998, Rocha et al. 2010).

Na análise da contagem absoluta dos bastonetes, eosinófilos, basófilos e monócitos foi verificado efeito de grupo somente para a contagem de monócitos, em que o grupo controle (G3) apresentou os maiores valores médios. O efeito de momento foi observado em todas as células, com exceção dos bastonetes (Quadro 1 e Quadro 5). Apesar do resultado estatístico, salienta-se não haver influência da suplementação nem do fator etário sobre a contagem destas células, cujos valores médios situavam-se dentro dos considerados normais para a espécie, não havendo justificativa biológica para tal (Byers & Kramer 2010).

Quanto ao fibrinogênio plasmático constatou-se haver efeito de momento ($P < 0,0001$), observando menor concentração ao nascimento (121,74mg/dL) e maior na primeira semana de vida (319,05mg/dL), não havendo diferença estatística entre os grupos ($P > 0,5524$) (Quadro 5 e Fig. 6). Os valores médios observados em todos os momentos caracterizou não haver estímulo antigênico, estando normal para a espécie (Byers & Kramer 2010), tendo em vista ser esta proteína um indicador confiável de inflamação ou infecção bacteriana, conforme constatado por Costa et al. (2010).

Proteinograma: O eletroforetograma das proteínas do soro sanguíneo dos cordeiros do nascimento aos 90 dias de idade permitiu a identificação de até 32 frações proteicas, com pesos moleculares que variaram de 16.000 Da a 305.000 Da. Destas, dez proteínas foram consideradas de interesse e submetidas à análise estatística: IgG de cadeia pesada, IgG de cadeia leve, IgA, albumina, transferrina, proteína não identificada de peso molecular 23000 Da, haptoglobina, ceruloplasmina, $\alpha 1$ - glicoproteína ácida e $\alpha 1$ -antitripsina.

Os fatores de variação, o valor de F da análise de variância e o nível de P das proteínas identificadas no soro sanguíneo dos cordeiros podem ser visualizados no Quadro 2.

Na análise da concentração da proteína total, observa-se efeito de grupo ($P < 0,0257$), no qual o grupo suplementado com cobalto associado à vitamina B₁₂ apresentou as menores concentrações, quando comparado aos demais. O efeito de momento foi observado ($P < 0,0001$) nas primeiras horas de vida, detectando logo após o nascimento concentração sérica de 3,78g/dL que às 12-24 horas após a ingestão do colostro atingiu concentração máxima superior a 6,0g/dL, posteriormente os valores médios decresceram um pouco, se mantendo constante até os 90 dias de observação (Quadro 6 e Fig.7).

Os valores da concentração proteica observados antes da ingestão do colostro e posteriormente, quando atingiram valores médios máximos às 12 h e 24h, apesar de estarem situados no limite de normalidade para ovinos (Eckersall 2008), foram inferiores aos observados por Nunes (2006) trabalhando com borregos também da raça Santa Inês, bem como os de Turquino (2010) às 24 h de vida e similares aos relatados por Féres et al. (2010), trabalhando com borregos de 0 a 30 dias de idade. O aumento da concentração proteica às 12h e 24 h ocorreu pelo aumento particularmente da fração globulina, em decorrência do aumento de imunoglobulina G (IgG), ratificado pela alta correlação positiva entre a proteína total e a IgG ($r=0,78$) (Quadro 9). Apesar da concentração proteica estar situada nas primeiras 12-24h de vida, no limite inferior de normalidade, os cordeiros de todos os grupos apresentaram valores médios superiores a 5,0g/dL, considerado este como limítrofe para o diagnóstico de falha da transferência de imunidade passiva (Radostits et al. 2007, Féres et al. 2010). Adotando os critérios de Tyler et al. (1996), poderia-se considerar que ocorreu moderado sucesso na transferência de imunidade, os quais sugeriram 5,5g/dL como valor mínimo da concentração proteica nas primeiras 24/48h de vida.

A discreta redução e estabilização nos valores médios da proteína total observada a partir dos 15 dias até os 90 dias de vida ocorreram como consequência da diminuição dos níveis da IgG, em decorrência do catabolismo das imunoglobulinas adquiridas passivamente, conforme também observado por Pauletti et al.(2002) e Silva et al. (2010).

Ao avaliar as concentrações das imunoglobulinas das classes IgG e IgA verificou-se efeito de grupo somente para a imunoglobulina IgG, enquanto que em ambas (IgG e IgA) foi observado efeito de momento (Quadro 2). O grupo controle foi o que apresentou a maior média geral da concentração de IgG (1110,34mg/dL), seguido do G1 e do G2, esta diferença de comportamento provavelmente esteja relacionado a um fator inerente a absorção de imunoglobulinas pelos borregos (McGuirk 2008), tendo em vista a concentração satisfatória de imunoglobulinas mensuradas no colostro das ovelhas suplementadas com cobalto associado a vitamina B₁₂ (Campos et al. 2013).

Quanto ao efeito de momento das imunoglobulinas da classe IgG, ressalta-se os valores ínfimos logo após o nascimento antes da ingestão do colostro (Quadro 7), ratificando o nascimento de animais

hipo/agamaglobulinêmicos inerentes aos ruminantes pelo tipo de placenta sindesmocorial (Garry et al 1993), para logo após a ingestão do colostro, já às seis horas de vida, se elevarem aproximadamente seis e treze vezes, quando comparado ao valor inicial, para as IgG's de cadeia pesada e leve, respectivamente, enquanto que na IgA foi somente de 0,32 vezes. Às 12h e 24h foram detectadas no soro sanguíneo dos cordeiros as maiores concentrações médias de IgG (total), caracterizado por elevação superior a treze vezes o valor inicial, que posteriormente sofre um declínio até aos trinta dias de idade para em seguida se elevar gradativamente até os 90 dias de observação (Quadro 7, Fig.11).

Após a ingestão do colostro, apesar dos valores das médias gerais de IgG, observados neste estudo, serem inferiores aos obtidos em borregos empregando-se a técnica de imunodifusão radial (Maden et al. 2003, Britti et al. 2005), é possível considerar ter ocorrido transferência passiva de imunidade de moderada a boa nos três grupos, respaldado não somente na concentração de IgG observada como também pela condição clínica satisfatória dos animais ao longo de todo o período experimental, inclusive pelo peso corpóreo médio de 3,12kg apresentado ao nascimento. Para Turquino (2010), cordeiros nascidos com peso ≥ 3 kg teriam maior chance de sobrevivência, pela forte associação apresentada com a adequada transferência de imunidade passiva. Silva et al. (2007), ao compararem as técnicas de eletroforese em gel de poliacrilamida e a imunodifusão radial na avaliação da imunidade passiva em caprinos recém nascidos observaram valores inferiores na concentração da IgG pela eletroforese, atribuindo este achado ao fato da eletroforese em gel de poliacrilamida ser um teste de fracionamento de proteínas mais acurado, sendo possível a identificação de frações proteicas mais específicas (Nunes 2006). A diminuição dos valores das imunoglobulinas G aos 30 dias de idade pode ser justificado como decorrente do consumo ou degradação das imunoglobulinas transferidas passivamente após a ingestão do colostro, conforme também relatado por Borges et al. (2001) e Silva et al. (2010).

Quanto a IgA observa-se também as menores concentrações antes da ingestão do colostro (49,72 mg/dL), no entanto sua elevação ocorre de forma mais expressiva a partir das 48 horas de vida. Não foi observada correlação entre a proteína total e a imunoglobulina IgA ($r=-0,14$). Os resultados obtidos neste estudo foram superiores aos relatados por Lemos (2011) trabalhando com ovelhas em lactação, bem como superiores aos referendados por Tizard (2013), o que é esperado em animais após o nascimento. As concentrações séricas desta variável estão de acordo com o observado por Rocha (2010), no entanto, inferiores aos verificados por Fagliari et al. (2006), ambos utilizando bezerros com idade inferior a 90 dias e empregando a mesma metodologia utilizada neste estudo, confirmando a importância desta classe de imunoglobulina na defesa local, das superfícies corpóreas, protegendo o neonato de patógenos bacterianos e virais, fundamental nesta fase crítica de vida (Gershwin 2008).

Na análise da albumina sérica, proteína observada em maior abundância no soro sanguíneo, não foi observada diferença entre os grupos ($P>0,0769$), que se comportaram de forma similar, no entanto houve diferença estatística entre os momentos de observação ($P<0,0001$). As menores concentrações foram observadas antes da ingestão do colostro (2803,4 mg/dL), sendo verificada elevação significativa na concentração desta proteína às 6h (3581,6 mg/dL) e 12h (3702,4 mg/dL) após a ingestão do colostro, decrescendo posteriormente e retornando a se elevar ($P<0,0500$) a partir dos 15 dias de vida (Quadros 2 e 6, Fig. 8). Em virtude deste comportamento foi constatada correlação de alta intensidade ($r=0,61$) entre as concentrações séricas da proteína total e a albumina.

As concentrações de albumina verificadas neste estudo foram superiores aos relatados por Silva et al. (2010) trabalhando também com cordeiros jovens, no entanto empregando a eletroforese em gel de agarose. Achados crescentes desta variável após o nascimento também foram citados por Rocha (2010) em bezerros. A elevação nos valores desta proteína a partir dos 15 dias de vida coincidiu com o início do fornecimento de concentrado que se deu aos dez dias, estes achados também foram relatados por Silva et al (2010), mais tardiamente após a ingestão de ração concentrada, podendo ser justificada esta elevação à ingestão de compostos nitrogenados na dieta. Por ser a albumina um indicador confiável do metabolismo proteico (Contreras et al. 2000), estes achados caracterizam não ter ocorrido qualquer déficit proteico nos animais acompanhados durante o período experimental.

Na avaliação da concentração sanguínea da transferrina observa-se não ter diferença de comportamento entre os três grupos estudados ($P>0,2938$), sendo verificado somente efeito de momento ($P<0,0001$), observando as menores concentrações desta proteína ao nascimento (302,25 mg/dL), que logo em seguida, após a ingestão do colostro, já nas primeiras 6h de vida, é verificado o aumento significativo ($P<0,05$) nos valores médios, se elevando gradativamente até os 15 dias de vida, momento que atingiu a concentração máxima de 613,77 mg/dL, decrescendo posteriormente (Quadros 2 e 6, Fig.9). Comportamento semelhante aos cordeiros foi relatado por Rocha (2010) que também observou nos bezerros a elevação desta variável após a ingestão do colostro nas primeiras duas semanas de vida, contrapondo os valores inferiores citados por Fagliari et al. (2006). A elevação da transferrina nos momentos iniciais de vida é justificada pela sua presença no colostro, uma vez que a lactoferrina é uma proteína que ligada ao ferro, relaciona-se às atividades da transferrina, sendo encontrada no soro, sugerindo estar envolvida na transferência desta proteína para o cordeiro. Concentrações aumentadas, conforme verificado por Baroza (2007), são de grande importância para o neonato, pois protegem o seu intestino

contra infecções, já que devido a sua conjugação com receptores existentes nas vilosidades intestinais impedem a multiplicação de patógenos intestinais (Robblee et al. 2003).

A proteína identificada como de peso molecular de 23000 Da teve um perfil gradativo crescente em sua concentração, caracterizando o efeito ao longo dos momentos experimentais ($P < 0,0001$), que iniciou antes da ingestão do colostro (0h) e se estendeu ao momento final (90 dias) (Quadros 2 e 6). Rocha (2010) também verificou aumento gradativo nas concentrações desta proteína nos grupos avaliados, após a ingestão do colostro e no decorrer do período experimental, com valores máximos observados aos 30 dias de idade.

Quanto as proteínas denominadas de fase aguda (PFA) positiva, haptoglobina, ceruloplasmina, $\alpha 1$ glicoproteína ácida e $\alpha 1$ antitripsina, apenas a ceruloplasmina apresentou efeito de grupo ($P < 0,0050$), tendo o grupo cujas mães foram suplementadas com propileno glicol apresentou concentrações desta variável superior aos demais grupos (46,54 mg/dL). A dinâmica da concentração destas proteínas ao longo dos momentos experimentais variou um pouco de uma proteína para outra já nas primeiras seis horas após o nascimento do cordeiro, em que se visualizou discreto aumento dos valores médios das PFA citadas acima, com exceção da $\alpha 1$ glicoproteína ácida (Quadro 8). Após este primeiro momento de observação (6h) os comportamentos das proteínas vão diferir um pouco entre si, ou seja, as concentrações médias da haptoglobina praticamente se mantém constante ao longo de todo o experimento, observando um discreto aumento 30 dias após o nascimento (Fig. 13). A ceruloplasmina, como a haptoglobina se mantém estável após às 6h de vida, no entanto aos sete dias de observação os valores médios da ceruloplasmina ascendem de forma expressiva, mantendo-se constante até os 90 dias de delineamento (Fig. 14). Estes resultados divergem dos relatados por Matos (2005), que constatou distribuição homogênea da concentração desta proteína, determinada bioquimicamente, durante todo o período experimental, não sofrendo influência de idade, sexo e raça nos cordeiros. Os valores médios de haptoglobina inferiores a 11,0 mg/dL estão muito abaixo dos relatados por Skinner & Roberts (1994) como indicativos de processo infeccioso ativo, o que se respalda na ausência de achados clínicos dos animais em estudo. Matos (2005) ao mensurar a haptoglobina de cordeiros do nascimento aos seis meses de idade pelo método da cianometahemoglobina observou maiores concentrações séricas desta proteína na primeira semana de vida, retornando às concentrações basais nos momentos subsequentes, justificando este aumento a condição de estresse do parto, conforme relatado anteriormente na espécie bovina (Murata & Miyamoto 1993). As concentrações sanguíneas da $\alpha 1$ glicoproteína ácida, em seguida ao decréscimo inicial (6h), se elevam gradativamente até as 72h, permanecendo estáveis ao longo dos momentos (Fig. 15). Os valores médios da $\alpha 1$ glicoproteína ácida registrados neste estudo diferem das concentrações muito inferiores, obtidas por provas bioquímicas, citadas no trabalho de Matos (2005), provavelmente pela distinta metodologia empregada. A $\alpha 1$ antitripsina apresenta maiores concentrações às 12h de vida, decrescendo posteriormente até as 72h permanecendo estável e com valores médios semelhantes aos do momento do nascimento durante todo o período de observação (Fig. 16). Tendo em vista a ausência de manifestações clínicas inerentes às infecções bacterianas intercorrentes acometendo os cordeiros, ratificado pela ausência da magnitude da elevação destas proteínas, consideradas de fase aguda positiva para ruminantes, conforme relatado na literatura por diferentes autores (Petersen et al. 2004, Ceron et al. 2005, Costa et al. 2010, Lemos et al. 2013) sugere-se que estes resultados assinalados acima possam ser considerados como sendo resultantes do fator etário, necessitando de mais estudos, tendo em vista a escassez de literatura sobre este tema empregando pequenos ruminantes na fase inicial da vida.

CONCLUSÃO

A suplementação com propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação não foi determinante para influenciar na transferência de imunidade passiva dos cordeiros acompanhados nos primeiros 90 dias de vida, assim como na dinâmica do proteinograma, sendo este influenciado pelo fator etário particularmente pela elevação da concentração da ceruloplasmina, $\alpha 1$ -glicoproteína ácida, $\alpha 1$ antitripsina e transferrina nas primeiras duas semanas de vida, no entanto, a administração de cobalto associado à vitamina B₁₂ no final da gestação influenciou positivamente no incremento dos parâmetros eritrocitários dos cordeiros.

Agradecimentos: À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio financeiro e pela concessão da Bolsa de Pós-Graduação (PBPG).

REFERÊNCIAS

- Afonso J.A.B. Toxemia da prenhez. 2006. Jornal do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Pernambuco: Veterinária e Zootecnia, CRMV-PE. 26, p.7.
- Adams R., Garry F.B., Aldridge B., Holland M.D. & Odde K.G. 1992. Hematologic values in newborn beef calves. American Journal of Veterinary Research. 53 (6): p.944-950.

- Ayres M.C.C., Dorea R.D., Birgel Júnior E.H., Viana R.B., Lara M.C.C.S.H., Bittencourt T.C.B.S.C. & Birgel E.H. 2009. Dinâmica do leucograma de caprinos jovens, do nascimento até seis meses de idade: influência do fator racial. *Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1: Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria*.
- Baranowski P., Baranowski S.B. & Klata W. 1999. Selected blood and boné biochemical values in single and twin lambs Born in autumn and spring. *Bulletin of the Veterinary in Pulawy*. 43: 191-196.
- Baroza P.F.J. 2007. Proteínas, enzimas e minerais na secreção láctea de cabras e vacas, nos primeiros 30 dias pós-parto, congelada ou não. Dissertação em Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 113f.
- Biondo A.W., Lopes S.T.A., Kohayagawa A., Takahira R.K. & Alencar N.X. 1998. Hemograma de bovinos (*Bos indicus*) sadios da raça nelore no primeiro mês de vida, criados no Estado de São Paulo. *Ciência Rural*. 28 (2): p.251-256.
- Borges A.S., Feitosa F.L.F., Benesi F.J., Birgel E.H. & Mendes L.C.N. 2001. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 53 (5): p.629-634.
- Borges F.B. 2003. Uso da niacina na alimentação de vacas de alta produção. Disponível em: www.zootec.com.br/niacina.htm Acesso em 28 abr.2007.
- Britti D., Massimini G., Peli A., Luciani A. & Boari A. 2005. Evaluation of serum enzyme activities as predictors of passive transfer status in Lamb. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 226 (6): p.951-955.
- Byers S.R. & Kramer J.W. 2010. Normal hematology of sheep and goats. In: Weiss D.J., Wardrop K.J. (Eds) *Schalm’s Veterinary Hematology*. Iowa: Blackwell Publishing Ltda. p.836-842.
- Campos A.G.S.S., Santos R.A., Afonso J.A.B., Soares P.C., Fagliari J.J., Cesar P.C., Mendonça C.L. 2013. Concentração de imunoglobulinas do colostro de ovelhas submetidas à administração de propileno glicol e cobalto associado à vitamina B₁₂. *Anais do X Congresso Brasileiro de Buiatria In: Revista Científica Veterinária e Zootecnia-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus Botucatu*.
- Castañeda-Gutiérrez E., Pelton S.H., Gilbert R.O., Butler W.R. 2009. Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. *Animal Reproduction Science*.112(3-4): 301-15.
- Ceron J.J., Eckersall P.D. & Martynez-Subiela S. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, 34:85-99.
- Chiofalo V., D’Aquino S, Scinaro T. E., Sanzarello L., Chiofalo B., Piccitto F., Cavallaro M. & Liotta L. 2009. Effect of peripartum propylene glycol supplementation on some biochemical parameters in dairy goats. *Tropical Subtropical Agroecosystem*. 11(1): 215-217.
- Chiofalo V., Todaro M., Liotta L., Margiotta S., Manzo T. & Leto G. 2005. Effect of propylene glycol on pré- and postpartum performance by dairy ewes. *Small Ruminant Research*. 58: 107-114.
- Contreras P.A., Wittwer F. & Böhmwald H. 2000. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos. In: González F.H.D., Barcelos J.O., Ospina H., Ribeiro L.A.O. *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. P.75-88.
- Costa N.A., Simão L.C.V., Santos R.A., Afonso J.A.B., Fagliari J.J., Cardoso E.C., Soares P.C. & Mendonça C.L. 2010. Proteinograma e teores de cobre, ferro e zinco no soro de ovelhas da raça Santa Inês com mastite experimental por *Staphylococcus aureus*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(5): 435-442.
- Diffay B.C., McKenzie D., Wolf C. & Pugh D.G. 2004. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: Pugh DC. *Clínica de ovinos e caprinos*. São Paulo: Roca, p.1-19.
- Duncan W.R.H., Morrison E.R. & Garton G.A. 1981. Effects of cobalt deficiency in pregnant and post-parturient ewes and their lambs. *British Journal of Nutrition*. 46: 337-344.
- Eckersall P.D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias. 2008. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. (eds.) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press, San Diego, cap. 5, p. 117-155.
- Fagliari J.J., Rizolli F.W., Silva S.L. & Silva D.G. 2006. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 58(3):450-453.
- Fagliari J.J. & Silva S.L. 2002. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hígidos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte*. 54 (6): p. 559-586.
- Féres F.C., Lombardi A.L., Barbosa T.S., Mendes L.C.N., Peiró J.R., Cadioli F.A., Perri S.H.V. & Feitosa F.L.F. 2010. Avaliação da transferência de imunidade passiva em cordeiros com até 30 dias de idade. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 47 (3): p.231-236.
- Gama S.M.S., Matos J.R., Zacharias F., Chaves Filho R.M., Guimarães J.E., Bittencourt T.C.B.S.C. & Ayres M.C.C. 2007. Dinâmica do eritrograma de cordeiros, resultantes do cruzamento entre animais de raças nativas criadas no Nordeste e a raça Dorper, desde o nascimento até os seis meses de idade. *Revista Brasileira de Saúde e produção Animal*. 8 (1): p.11-23.
- Garry F., Adams R. & Aldridge B. 1993. Role of colostrum transfer in neonatal calf management: current concepts in

- diagnosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 15(8):1167-1175.
- Gay C.C. Exame clínico de ovinos e caprinos. 2002. In: Radostits O.M., Joe Mayhew I.G. & Houston D.M. Exame clínica e diagnóstico em veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.10: p.140-148.
- Gershwin L.J. 2008. *Clinical Veterinary Immunology*. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6^a ed. San Diego: Academic Press. chapter 6: 157-172.
- Islam R., Rashid S.M.H., Hossain M.K. & Rahman M. 2005. Effects of hematinics on body weight and some hematological values in sheep and goats. *International Journal of Agriculture & Biology*. 7(4):582-584.
- Jain, N.C. 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1221p.
- Jain N.C. 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*, Philadelphia: Lea & Febiger, 417p.
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.
- Le Jan C. 1996. Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Veterinary Research*. 27: 403-417.
- Lemos V.F. 2011. Proteinograma do soro sanguíneo e lácteo de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação. Dissertação de Mestrado em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, PE, 99f.
- Lemos V.L., Guaraná E.L.S., Afonso J.A.B., Fagliari J.J., Silva P.C., Soares & Mendonça C.L. 2013. Proteinograma do soro lácteo de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases de lactação *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33: 807-812.
- Little T.M. & Hill F.J. 1978. *Agricultural experimentation - Design and Analysis*. John Wiley & Sons, New York, 350p.
- Maden M., Altunok V., Birdane F.M., F.M., Aslan V. & Nizamlioglu M. 2003. Blood and colostrums/milk serum gamma-glutamyltransferase activity as a predictor of passive transfer status in lambs. *Journal of Veterinary Medicine, series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. 50(3):128-131.
- Matos J.R. 2005. Proteínas de fase aguda em cordeiros e em ovelhas nos períodos de pré-parto e lactação. 56f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical) - Universidade Federal da Bahia, Salvador.
- McGuirk S.M. 2008. Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice*, 24(1): 139-153.
- Murata H. & Miyamoto T. 1993. Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves. *British Veterinary Journal*, 149(3):277-83.
- National Research Council - NRC. 1985. *Nutrient requirements of sheep*. 6 ed. Washington D.C: National Academy Press, 99p.
- Nielsen N.I. & Ingvarsten K.L. 2004. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed and Technology*. v.115: 191-213.
- Nowak R., Murpy T.M., Lindsay D.R., Alster P., Andersson R. & Uvnaas-Morberg K. 1997. Development of a preferential relationship with the mother by the newborn lamb: importance of suckling activity. *Physiology & Behavior*, 62(4):681-688.
- Nunes A.B.V. 2006. Estudo da transmissão da imunidade passiva e da mortalidade em cordeiros mestiços de Santa Inês, na região Norte de Minas Gerais, Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 82f.
- Oliveira J.J. A solução é apalpar o úbere da Santa Inês. *O Berro*, 2000. Disponível em: <http://www.zebus.com.br/zootecnia3_40_berro.htm>. Acesso em: 20 out. 2002.
- Pauletti P., Machado Neto R., Packer I.U. & Bessi R. 2002. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça holandesa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(1):89-94.
- Pearson E.G. & Mass J. 2002. Hepatic lipidosis. In: Smith BP. *Large animal internal medicine*. 3ed. St. Louis: Mosby, p.810-815.
- Petersen H.H., Nielsen J.P. & Heegard P.M.H. 2004. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, 35: 163-187.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., Constable P.D. 2007. *Veterinary Medicine*. 10ed., London: Saunders Elsevier, 2156p.
- Rings M. 1985. Therapeutic considerations in ketosis and hepatic lipidosis in cattle. *Modern Veterinary Practice*. p.523-526.
- Robblee E.D., Erickson P.S., Whitehouse N.L., McLaughlin A.M., Schwab C.G., Rejman J.J. & Rompala R.E. 2003. Supplemental lactoferrin improves health and growth of Holstein calves during the preweaning phase. *Journal of Dairy Science*, 86 (4): 1458-1464.
- Rocha T.G. 2010. Avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros de vacas da raça Canchin. 108f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São Paulo.

- Rocha T.G., Franciosi C., Nociti R.P., Nogueira C.A.S. & Fagliari J.J. 2010. Hemograma e proteínas do soro sanguíneo de bezerros Canchim-Nelore e da raça Holandesa nos primeiros 30 dias de vida. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 62 (5): p.1250-1254.
- Russel A.J.F. 1991. Nutrition of pregnant ewe. In: *Sheep and goat practice* London:Baillière Tindall. p.29-39.
- Sharmin M.L., Myenuddin M. & Amin M.R. 2004. Effects of haematinics on body weight and certain haematological values in sheep. *Banl. J. Vet. Med.* 2(2): 151-153.
- Silva S.L., Fagliari J.J., Baroza P.F.J., Cesco F.T.R.S., Jorge R.L.N. 2007. Avaliação da imunidade passiva em caprinos recém-nascidos alimentados com colostro de cabras ou colostro de vacas. *Ars Veterinaria*, 23(2):81-88.
- Silva D.F.M., Costa J.N., Araújo A.L., Neto A.O.C., Almeida M.A.O. & Carvalho V.S. 2010. Proteinograma sérico de cordeiros mestiços (Santa Inês x Dorper) do nascimento até o desmame: efeito do desenvolvimento etário e do monitoramento da ingestão do colostro. *Ciência Animal Brasileira*. 11(4): 794-805.
- Skinner J.G. & Roberts L. 1994. Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. *The Veterinary Record*. 134: p. 33-36.
- Souza D.F. 2012. Parâmetros hematológicos e de bioquímica clínica de cordeiros em crescimento. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Paraná.
- Stangl G.I., Schwarz F.J., Müller H. & Kirchgessner M. 2000. Evaluation of the cobalt requirement of beef cattle based on vitamin B₁₂, folate, homocysteine and methylmalonic acid. *British Journal of Nutrition*. 84:645-653.
- Statistical Analyses System Institute 2009. *SAS User's Guide: Statistics* version. Cary, New York.
- Tennant B., Harold D., Reina-Guerra M., Kendrick J.W. & Laben R.C. 1974. Hematology of the neonatal calf: erythrocyte and leucocyte values of normal calves. *Cornell Veterinarian*. 64: p.516-532.
- Tizard I.R. 2013. *Veterinary immunology*. 9th ed. St. Louis:Elsevier Saunders, p.551.
- Turquino C.F. 2010. Transferência de imunidade passiva e comportamento de cordeiros de corte recém-nascidos. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 74p.
- Tyler J.W., Hancock D.D., Parish S.M., Sanders S.G., Wilson L.K. 1996. Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10(5): 304-307.
- Ullrey D.E., Miller E.R., Long C.H. & Vincent B.H. 1965. Sheep hematology from birth to maturity I. erythrocyte population, size and hemoglobin concentration. *Journal of Animal Science*. 24: p.135-140.
- Ullrey D.E., Miller E.R., Long C.H. & Vincent B.H. 1965. Sheep hematology from birth to maturity II. Leukocyte concentration and differential distribution. *Journal of Animal Science*. 24: p. 141-144.

Quadro 1 – Nível de significância (Pr>F) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao perfil hematológico dos cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação.

| variáveis hematológicas | Fatores de variação (Pr>F) | | |
|-----------------------------|----------------------------|--------------|--------|
| | Grupos (G) | Momentos (M) | G x M |
| | sangue | | |
| Volume Globular | <0,0001 | <0,0001 | 0,9981 |
| Contagem de Hemácias | <0,0001 | <0,0001 | 0,9929 |
| Concentração de Hemoglobina | <0,0001 | <0,0001 | 0,9998 |
| VCM | 0,0600 | <0,0001 | 0,8166 |
| CHCM | 0,7759 | 0,2713 | 0,4074 |
| Leucócitos Totais | 0,3438 | <0,0001 | 0,8275 |
| Linfócitos | 0,0111 | <0,0001 | 0,3928 |
| Bastonetes | 0,7265 | 0,4433 | 0,0637 |
| Eosinófilos | 0,3153 | <0,0001 | 0,1778 |
| Monócitos | 0,0001 | <0,0001 | 0,3754 |
| Basófilos | 0,1595 | 0,0432 | 0,2250 |
| Neutrófilos | 0,4905 | <0,0001 | 0,6379 |
| Fibrinogênio Plasmático | 0,5524 | <0,0001 | 0,0796 |

Quadro 2 – Nível de significância (Pr>F) dos fatores de variação (grupos, momentos e interações) da análise de variância das variáveis referentes ao proteinograma do soro sanguíneo dos cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1), cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) e controle (G3) no final da gestação.

| Proteínas | Fatores de variação (Pr>F) | | |
|------------------------|----------------------------|--------------|--------|
| | Grupos (G) | Momentos (M) | G x M |
| | soro sanguíneo | | |
| Proteína Total | 0,0257 | <0,0001 | 0,6812 |
| Albumina | 0,0769 | <0,0001 | 0,7493 |
| Transferrina | 0,2938 | <0,0001 | 0,8387 |
| IgG de cadeia pesada | <0,0001 | <0,0001 | 0,6271 |
| PM: 23.000Da | 0,9293 | <0,0001 | 0,7796 |
| Haptoglobina | 0,1710 | <0,0500 | 0,9942 |
| Ceruloplasmina | 0,0050 | <0,0001 | 0,9831 |
| IgG Total | <0,0001 | <0,0001 | 0,7524 |
| IgG de cadeia leve | <0,0001 | <0,0001 | 0,7824 |
| IgA | 0,9694 | <0,0001 | 0,9648 |
| α1-glicoproteína ácida | 0,5230 | <0,0001 | 0,5846 |
| α1-antitripsina | 0,1373 | <0,0001 | 0,7034 |

Quadro 3 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) do volume globular (%), da contagem de hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) e da concentração de hemoglobina (g/dL) e do volume corpuscular médio (fL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | | MG |
|-----------|--|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| | Volume Globular (%) | | | | | | | | | |
| | 0 Horas | 24 Horas | 48 Horas | 72 Horas | 7 Dias | 15 Dias | 30 Dias | 60 Dias | 90 Dias | |
| G1 | 38,38±5,21 | 29,87± 6,33 | 26,87±6,08 | 24,12±5,82 | 23,87±5,22 | 23,25±5,50 | 26,37±6,19 | 32,12±3,31 | 31,87±3,68 | 28,52 ^{b**} |
| G2 | 40,86±6,82 | 34,71±6,85 | 31,86±6,54 | 28,86±6,99 | 28,43±3,50 | 28,71±2,87 | 33,14±4,84 | 36,43±4,58 | 37,43±2,57 | 33,38 ^a |
| G3 | 39,00±5,21 | 29,50±4,72 | 28,50±3,45 | 24,62±4,78 | 24,87±5,69 | 25,00±4,90 | 25,25±4,13 | 30,75±3,41 | 33,00±3,03 | 28,84 ^b |
| MG | 39,35 ^{a*} | 31,22 ^{bc} | 29,00 ^{cd} | 25,74 ^d | 25,61 ^d | 25,52 ^d | 28,04 ^{cd} | 32,96 ^b | 34,05 ^b | |
| | Contagem de Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| G1 | 10,76±1,26 | 8,73±1,74 | 8,09±1,80 | 7,43±0,13 | 7,51±1,63 | 7,50±1,70 | 8,73±1,85 | 10,71±1,10 | 10,61±1,13 | 8,90 ^{b**} |
| G2 | 11,32±1,54 | 10,00±1,78 | 9,36±1,82 | 8,67±2,00 | 8,85±1,22 | 9,39±0,83 | 11,01±1,53 | 11,92±1,66 | 12,18±0,90 | 10,30 ^a |
| G3 | 10,51±1,42 | 8,56±1,38 | 8,47±1,13 | 7,43±1,50 | 7,74±1,84 | 8,13±1,75 | 8,45±1,28 | 10,27±0,99 | 10,75±0,99 | 8,88 ^b |
| MG | 10,84 ^{a*} | 9,06 ^{bc} | 8,62 ^{bcd} | 7,81 ^d | 8,00 ^{cd} | 8,13±1,75 | 8,45±1,28 | 10,93 ^a | 11,18 ^a | |
| | Concentração de Hemoglobina (g/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 12,37±1,54 | 9,74±2,03 | 8,72±1,94 | 7,96±2,00 | 7,89±1,75 | 7,65±1,89 | 8,51±1,99 | 10,54±1,25 | 10,51±1,32 | 9,32 ^{b**} |
| G2 | 13,41±2,16 | 11,22±2,15 | 10,33±2,09 | 9,39±2,29 | 9,31±1,17 | 9,32±1,04 | 10,65±1,76 | 12,11±1,63 | 12,20±0,85 | 10,88 ^a |
| G3 | 12,50±1,77 | 9,65±1,45 | 9,33±1,16 | 8,02±1,51 | 8,10±1,91 | 8,17±1,62 | 8,29±1,29 | 10,06±1,06 | 10,79±1,08 | 9,40 ^b |
| MG | 12,73 ^{a*} | 10,16 ^{bc} | 9,43 ^{cd} | 8,42 ^d | 8,39 ^d | 8,34 ^d | 9,09 ^{cd} | 10,86 ^b | 11,16 ^b | |
| | Volume Corpuscular Médio (fL) | | | | | | | | | |
| G1 | 35,63±2,42 | 34,16±1,53 | 33,20±0,82 | 32,47±0,65 | 31,74±0,88 | 30,91±0,55 | 30,07±1,15 | 29,98±0,53 | 30,01±0,60 | 32,02 ^{a**} |
| G2 | 35,99±1,88 | 34,59±0,94 | 33,96±0,53 | 33,19±0,69 | 32,47±0,72 | 30,55±0,91 | 30,10±0,70 | 30,62±0,58 | 30,74±0,73 | 32,47 ^a |
| G3 | 37,18±2,74 | 34,49±0,83 | 33,70±0,78 | 33,22±0,63 | 32,22±1,70 | 30,89±1,60 | 29,82±0,67 | 29,90±0,83 | 30,69±0,51 | 32,47 ^a |
| MG | 36,28 ^{a*} | 34,41 ^b | 33,59 ^c | 32,95 ^c | 32,13 ^d | 30,80 ^e | 29,99 ^e | 30,15 ^e | 30,45 ^e | |

*Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; **Letras maiúsculas distintas na mesma colunas indicam diferenças entre grupos.

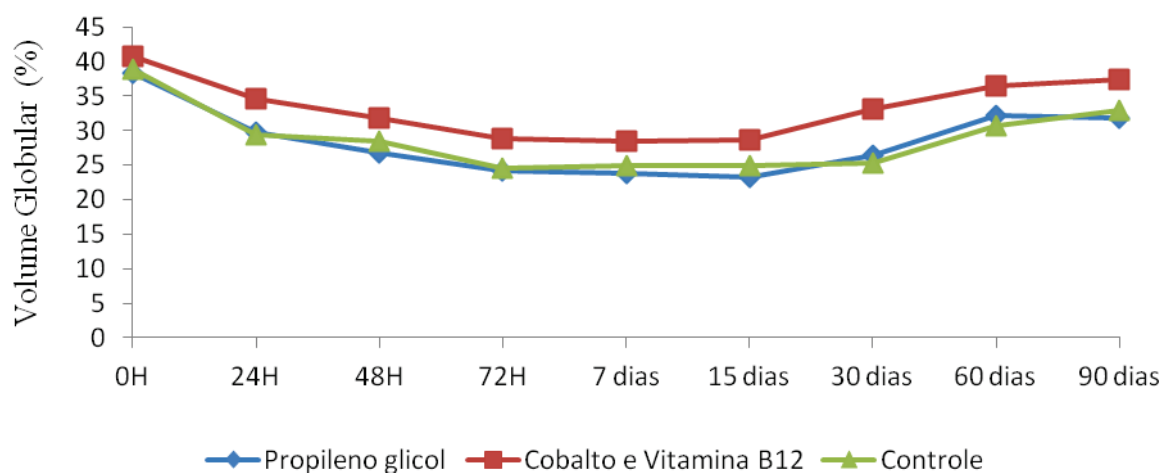


Fig 1: Valores médios do volume globular (%) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

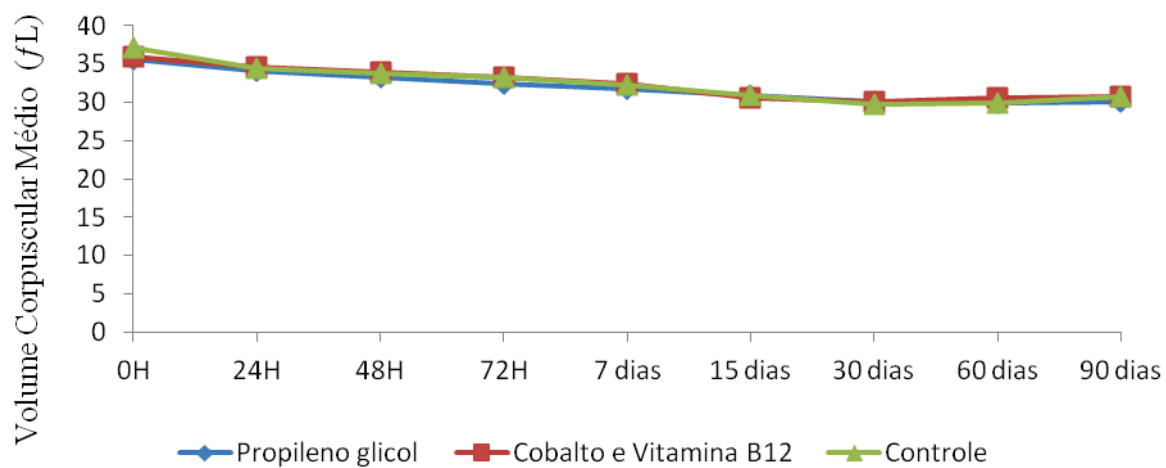


Fig 2: Valores médios do volume corpuscular médio (fL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

Quadro 4 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem total de leucócitos ($/\mu\text{L}$), da contagem absoluta de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$) e da contagem absoluta de linfócitos ($/\mu\text{L}$) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | | MG |
|-----------|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
| | Leucócitos Totais ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| | 0 Horas | 24 Horas | 48 Horas | 72 Horas | 7 Dias | 15 Dias | 30 Dias | 60 Dias | 90 Dias | |
| G1 | 3825,00 ±1276,43 | 6656,25 ±2398,43 | 5575,00 ±1553,11 | 5756,25 ±1952,00 | 6362,50 ±1516,52 | 9162,50 ±3554,75 | 9200,00 ±2299,22 | 9400,00 ±1770,39 | 9343,75 ±2640,00 | 7253,5 ^{a**} |
| G2 | 3764,29 ±720,37 | 6992,86 ±3285,50 | 5664,29 ±1222,60 | 5628,57 ±1228,77 | 8250,00 ±3760,87 | 9285,71 ±3918,52 | 8835,71 ±2206,19 | 9192,86 ±2520,98 | 9464,29 ±1706,29 | 7453,2 ^a |
| G3 | 3862,50 ±1367,15 | 7950,00 ±2435,31 | 6950,00 ±765,51 | 6743,75 ±1790,14 | 7700,00 ±1651,19 | 7693,75 ±2779,83 | 8700,00 ±3398,21 | 9987,50 ±1865,43 | 11566,67 ±3128,68 | 7826,5 ^a |
| MG | 3819,6 ^{d*} | 7208,7 ^{bc} | 5997,6 ^c | 6060,9 ^c | 7402,2 ^{bc} | 8689,1 ^{ab} | 8915,2 ^{ab} | 9541,3 ^a | 10019,0 ^a | |
| | Neutrófilos Segmentados ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| G1 | 2315,63 ±1100,19 | 3951,00 ±1538,89 | 2941,00 ±981,78 | 3540,88 ±1775,19 | 3827,88 ±1081,07 | 5810,43 ±2362,62 | 5483,25 ±2765,85 | 5553,38 ±1144,30 | 3960,25 ±1444,21 | 4130,4 ^{a**} |
| G2 | 2115,86 ±515,75 | 4149,14 ±2242,39 | 2823,00 ±1359,08 | 2649,00 ±1165,01 | 5078,00 ±3061,81 | 5105,29 ±2098,78 | 4386,43 ±1573,91 | 4856,14 ±1409,43 | 4079,71 ±862,79 | 3915,8 ^a |
| G3 | 2198,00 ±1527,09 | 5352,7 5±1790,63 | 4057,17 ±1015,02 | 3531,25 ±1001,50 | 4331,38 ±2256,31 | 4358,00 ±1503,46 | 5196,75 ±2127,29 | 4867,25 ±1217,50 | 4465,00 ±899,89 | 4262,0 ^a |
| MG | 2213,9 ^{c*} | 4498,9 ^{ab} | 3220,6 ^{bc} | 3266,1 ^{bc} | 4383,5 ^{ab} | 5057,9 ^a | 5049,8 ^a | 5102,5 ^a | 4144,3 ^{ab} | |
| | Linfócitos ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| G1 | 1627,00 ±467,71 | 2570,75 ±1546,49 | 2492,50 ±765,58 | 2007,38 ±522,67 | 2364,38 ±1080,18 | 2296,88 ±735,67 | 3237,63 ±1029,14 | 3508,13 ±1259,35 | 5043,75 ±1502,69 | 2777,1 ^{b**} |
| G2 | 1603,43 ±347,10 | 2756,57 ±1374,93 | 2664,71 ±634,05 | 2767,43 ±533,08 | 2920,86 ±855,37 | 3949,29 ±2231,53 | 4039,43 ±907,31 | 4065,57 ±1516,18 | 5148,86 ±1595,51 | 3324,0 ^a |
| G3 | 1627,00 ±467,71 | 2445,38 ±884,56 | 2695,00 ±1120,44 | 2907,38 ±1121,07 | 3140,75 ±1551,97 | 3113,88 ±1597,36 | 3059,75 ±1184,87 | 4914,50 ±1309,44 | 6832,50 ±2771,38 | 3335,8 ^a |
| MG | 1566,0 ^{d*} | 2583,7 ^c | 2607,8 ^c | 2551,7 ^c | 2803,8 ^c | 3084,0 ^c | 3419,8 ^c | 4167,0 ^b | 5589,9 ^a | |

* Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; ** Letras maiúsculas distintas na mesma colunas indicam diferenças entre grupos

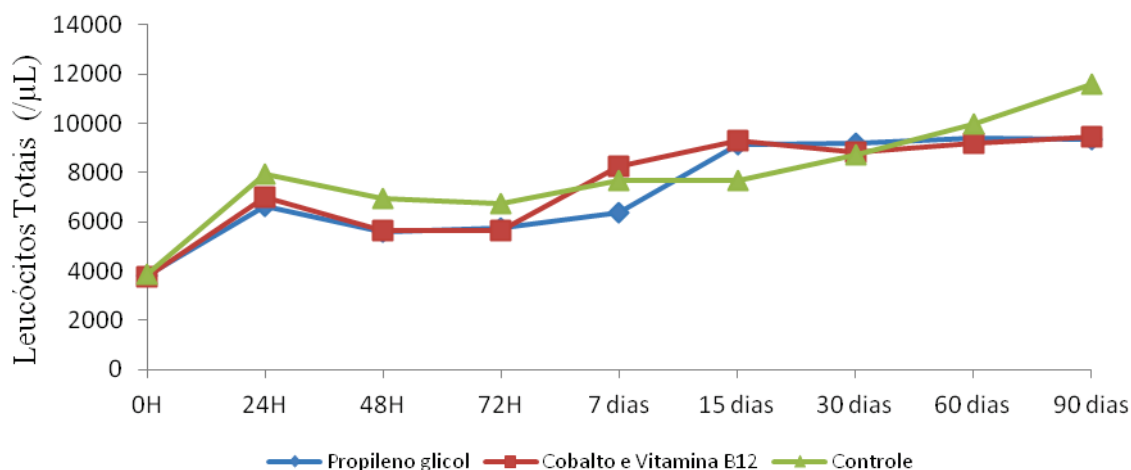


Fig.3: Valores médios da contagem absoluta de leucócitos totais (μL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

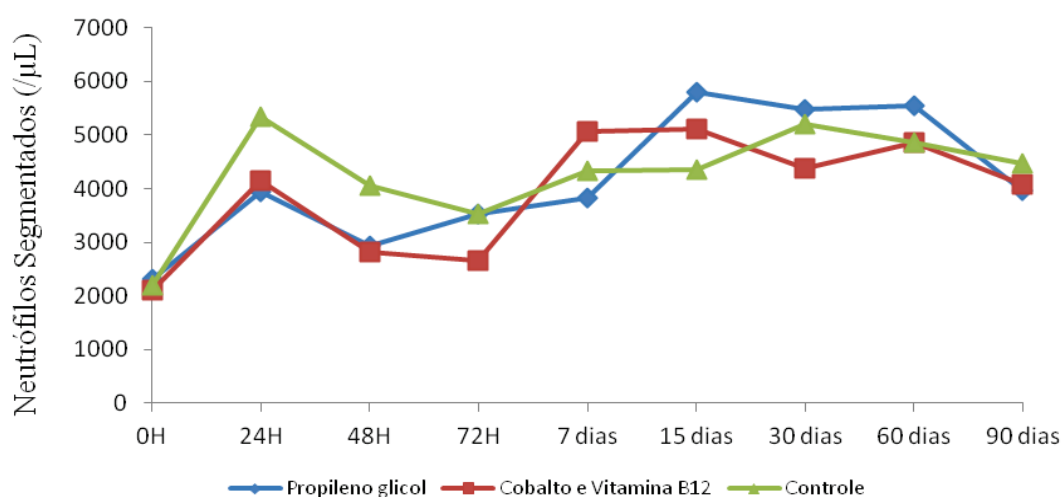


Fig.4: Valores médios da contagem absoluta de neutrófilos segmentados (μL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

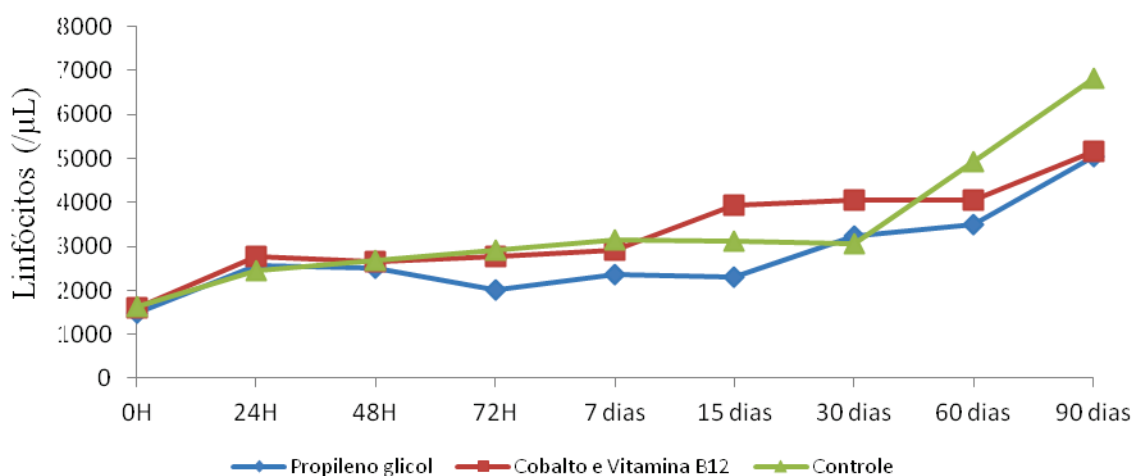


Fig.5: Valores médios da contagem absoluta de linfócitos (μL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

Quadro 5 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) da contagem absoluta dos monócitos ($/\mu\text{L}$), eosinófilos ($/\mu\text{L}$) e da concentração do fibrinogênio plasmático (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | | MG |
|-----------|---------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| | Monócitos ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| | 0 Horas | 24 Horas | 48 Horas | 72 Horas | 7 Dias | 15 Dias | 30 Dias | 60 Dias | 90 Dias | |
| G1 | 18,25 ±26,76 | 0±0 | 34,75 ±38,92 | 92,00 ±110,06 | 15,75 ±31,06 | 32,87±67,48 | 62,37±81,73 | 65,62±65,13 | 28,75 ±40,85 | 38,93 ^{b**} |
| G2 | 21,29 ±29,63 | 0 ±0 | 58,29 ±65,55 | 99,00 ±126,39 | 127,14±194,44 | 58,71±65,88 | 11,29±29,86 | 0 ±0 | 0 ±0 | 41,75 ^b |
| G3 | 30,12 ±37,71 | 37,12 ±57,03 | 52,00 ±58,97 | 189,37 ±92,10 | 113,62±128,81 | 105,75±104,87 | 109,50±139,46 | 68,25 ±59,40 | 50,00 ±103,85 | 83,97 ^a |
| MG | 23,22 ^{b*} | 12,37 ^b | 48,35 ^b | 126,79 ^a | 85,50 ^b | 65,78 ^b | 61,05 ^b | 44,62 ^b | 26,25 ^b | |
| | Eosinófilos ($/\mu\text{L}$) | | | | | | | | | |
| G1 | 0 ± 0 | 86,50±88,06 | 46,87±80,49 | 42,25±84,35 | 42,62±58,18 | 78,75±101,85 | 464,12±296,10 | 176,37±154,37 | 232,00±207,28 | 129,94 ^{a**} |
| G2 | 0±0 | 63,14±119,89 | 56,71±52,64 | 49,43±91,03 | 20,86±55,18 | 137,29±98,80 | 361,57±678,74 | 251,00±257,13 | 209,14±306,14 | 127,67 ^a |
| G3 | 0±0 | 95,25±97,37 | 78,25±82,81 | 28,75±47,50 | 79,00±132,93 | 109,12±186,15 | 207,37±258,19 | 53,62±100,30 | 78,25±104,12 | 81,07 ^a |
| MG | 0,00 ^{d*} | 81,63 ^{bc} | 60,61 ^{bc} | 40,14 ^d | 47,49 ^{cd} | 108,39 ^{bc} | 344,35 ^a | 160,33 ^{bc} | 173,13 ^{ab} | |
| | Fibrinogênio Plasmático (mg/dL) | | | | | | | | | |
| G1 | 100,00 ±0 | 162,50±51,75 | 250,00±119,52 | 237,50±91,61 | 257,14±127,24 | 214,29±37,80 | 250,00±141,42 | 287,50±172,69 | 175,00±88,64 | 214,29 ^{a**} |
| G2 | 128,57±48,79 | 171,43±75,59 | 200,00±115,47 | 257,14±139,73 | 416,67±183,48 | 357,14±214,92 | 214,29±69,01 | 200,00±57,73 | 185,71±89,97 | 233,87 ^a |
| G3 | 137,50±51,75 | 162,50±51,75 | 266,67±81,65 | 250,00±53,45 | 300,00±169,03 | 237,50±51,75 | 250,00±141,42 | 187,50±35,35 | 300,00±100,00 | 228,36 ^a |
| MG | 121,74 ^{d*} | 165,22 ^{cd} | 238,10 ^{abc} | 247,83 ^{abc} | 319,05 ^a | 268,18 ^{ab} | 239,13 ^{abc} | 226,09 ^{abc} | 210,00 ^{bc} | |

* Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; ** Letras maiúsculas distintas na mesma colunas indicam diferenças entre grupos

Quadro 6 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas da proteína total (g/dL), albumina (mg/dL), transferrina (mg/dL) e PM 23.000Da (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | | | | MG |
|----------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|------------------------|
| | Proteína Total (g/dL) | | | | | | | | | | | |
| | 0 Horas | 6 Horas | 12 Horas | 24 Horas | 48 Horas | 72 Horas | 7 Dias | 15 Dias | 30 Dias | 60 Dias | 90 Dias | |
| G1 | 3,86 ±0,45 | 5,98 ±0,35 | 6,96 ±1,19 | 6,12 ±1,36 | 5,70 ±0,62 | 5,46 ±0,87 | 5,28 ±0,80 | 5,07 ±0,33 | 5,45 ±0,47 | 5,44 ±0,52 | 5,58 ±0,57 | 5,54 ^{a**} |
| G2 | 3,74 ±0,38 | 5,58 ±1,10 | 5,84 ±0,95 | 5,67 ±0,99 | 5,36 ±1,16 | 5,16 ±1,03 | 5,16 ±0,74 | 5,32 ±0,72 | 5,41 ±0,79 | 5,37 ±0,64 | 5,79 ±0,22 | 5,31 ^b |
| G3 | 3,74 ±0,34 | 5,41 ±0,10 | 6,41 ±1,72 | 6,57 ±1,28 | 6,30 ±1,04 | 6,11 ±1,06 | 5,59 ±1,14 | 5,35 ±1,01 | 5,48 ±0,66 | 5,47 ±0,36 | 5,57 ±0,38 | 5,69 ^a |
| MG | 3,78 ^{d*} | 5,66 ^{bc} | 6,43 ^a | 6,14 ^{ab} | 5,80 ^{bc} | 5,59 ^{bc} | 5,35 ^{bc} | 5,25 ^{bc} | 5,45 ^{bc} | 5,43 ^{bc} | 5,65 ^{bc} | |
| Albumina (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 2774,01 ±279,69 | 3727,65 ±590,15 | 3967,09 ±645,17 | 3582,23 ±617,57 | 3350,18 ±377,11 | 3160,67 ±427,59 | 3173,47 ±572,14 | 3041,44 ±473,30 | 3502,82 ±481,45 | 3521,75 ±360,88 | 3643,55 ±362,41 | 3404,08 ^{a**} |
| G2 | 2776,05 ±315,97 | 3741,01 ±542,82 | 3683,70 ±481,95 | 3609,11 ±275,14 | 3432,21 ±448,00 | 3276,80 ±533,42 | 3306,61 ±383,76 | 3422,19 ±566,81 | 3750,04 ±573,28 | 3681,74 ±466,05 | 3886,27 ±256,24 | 3505,98 ^a |
| G3 | 2874,44 ±358,92 | 3296,11 ±562,71 | 3454,02 ±338,75 | 3471,45 ±298,19 | 3265,53 ±227,89 | 3392,66 ±195,28 | 3242,64 ±388,78 | 3171,88 ±427,13 | 3614,03 ±388,36 | 3545,88 ±302,73 | 3477,52 ±352,23 | 3349,43 ^a |
| MG | 2803,4 ^{d*} | 3581,6 ^{abc} | 3702,4 ^a | 3551,9 ^{abc} | 3345,7 ^{abc} | 3276,7 ^{bc} | 3238,0 ^{bc} | 3202,7 ^c | 3616,7 ^{ab} | 3582,0 ^{abc} | 3677,0 ^a | |
| Transferrina (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 290,83 ±43,18 | 454,23 ±75,23 | 487,53 ±73,41 | 421,93 ±107,68 | 436,27 ±78,65 | 476,08 ±66,39 | 527,89 ±120,34 | 621,60 ±108,10 | 584,49 ±127,81 | 468,39 ±93,50 | 419,19 ±43,40 | 471,68 ^{a**} |
| G2 | 286,35 ±83,32 | 451,04 ±124,61 | 475,16 ±87,08 | 404,06 ±86,85 | 425,96 ±93,59 | 497,78 ±80,09 | 497,67 ±86,21 | 605,39 ±52,05 | 479,16 ±91,91 | 411,15 ±39,77 | 406,87 ±60,16 | 449,15 ^a |
| G3 | 336,02 ±73,85 | 377,47 ±96,75 | 439,31 ±134,29 | 414,50 ±125,41 | 409,2 ±107,48 | 520,43 ±113,38 | 474,36 ±76,86 | 613,28 ±161,51 | 494,04 ±84,72 | 453,41 ±62,84 | 462,13 ±82,89 | 456,70 ^a |
| MG | 302,25 ^{d*} | 426,56 ^c | 467,00 ^{bc} | 413,91 ^c | 423,69 ^c | 498,11 ^{bc} | 500,07 ^{bc} | 613,77 ^a | 520,97 ^b | 445,03 ^{bc} | 427,35 ^c | |
| PM 23.000Da | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 40,66 ±16,80 | 62,07 ±22,22 | 63,27 ±30,28 | 91,58 ±33,82 | 124,94 ±27,70 | 154,58 ±24,33 | 165,57 ±48,28 | 196,03 ±66,32 | 212,82 ±49,49 | 193,85 ±41,68 | 164,96 ±31,93 | 133,66 ^{a**} |
| G2 | 34,71 ±8,79 | 54,20 ±11,70 | 72,03 ±18,11 | 78,03 ±9,84 | 116,95 ±22,88 | 169,58 ±35,37 | 170,45 ±26,47 | 232,51 ±34,01 | 225,46 ±73,66 | 159,01 ±38,29 | 161,96 ±16,54 | 134,08 ^a |
| G3 | 36,81 ±21,68 | 50,68 ±25,39 | 65,73 ±22,15 | 82,38 ±24,72 | 139,31 ±17,63 | 185,50 ±20,72 | 168,60 ±54,71 | 221,93 ±41,53 | 189,67 ±54,27 | 166,41 ±31,96 | 154,23 ±19,61 | 132,84 ^a |
| MG | 37,39 ^{e*} | 55,65 ^d | 67,01 ^d | 83,99 ^c | 127,07 ^b | 169,89 ^a | 168,21 ^a | 216,82 ^a | 209,32 ^a | 173,09 ^a | 160,38 ^a | |

* Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; ** Letras maiúsculas distintas na mesma colunas indicam diferenças entre grupos

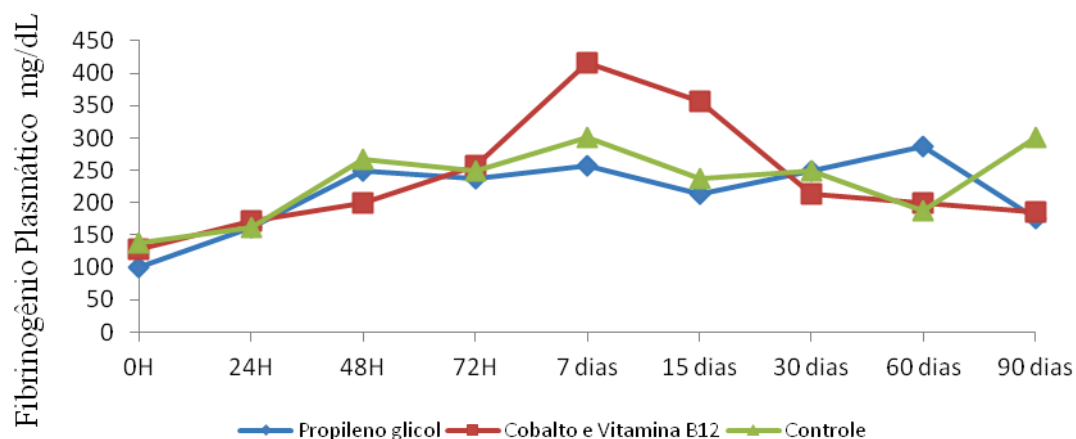


Fig.6: Valores médios da contagem absoluta de fibrinogênio plasmático (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

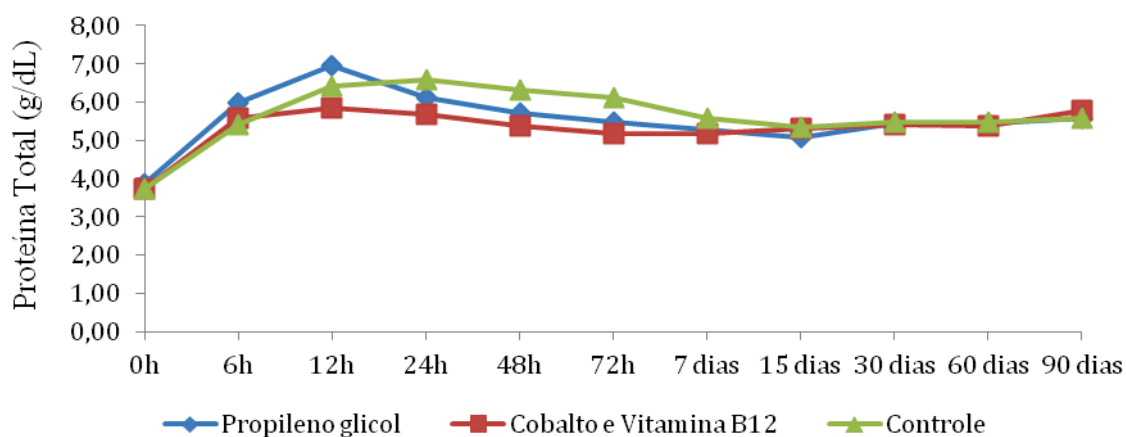


Fig. 7: Valores médios da concentração da proteína total (g/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

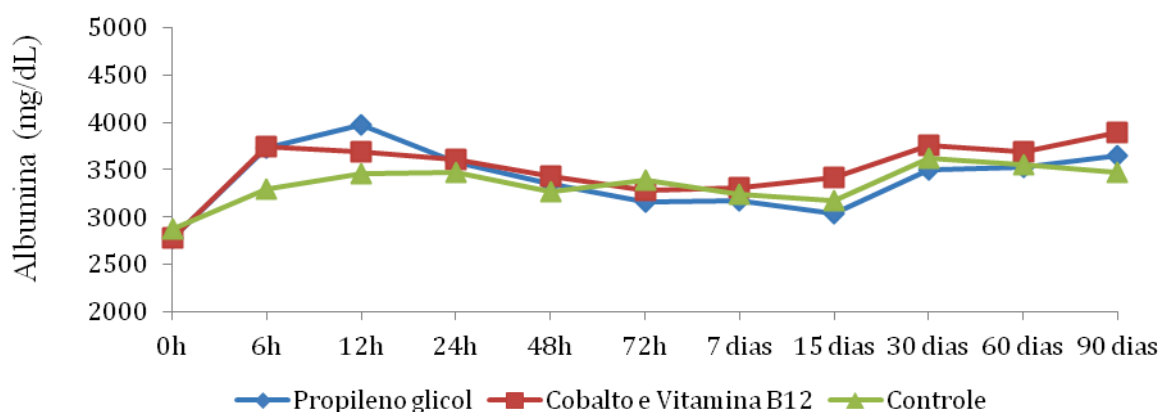


Fig. 8: Valores médios da concentração da albumina (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

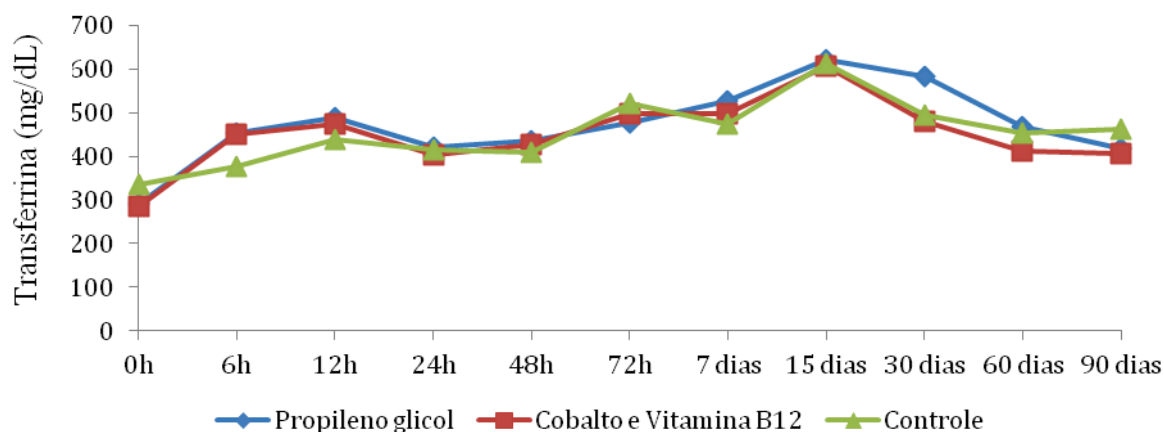


Fig. 9: Valores médios da concentração da transferrina (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

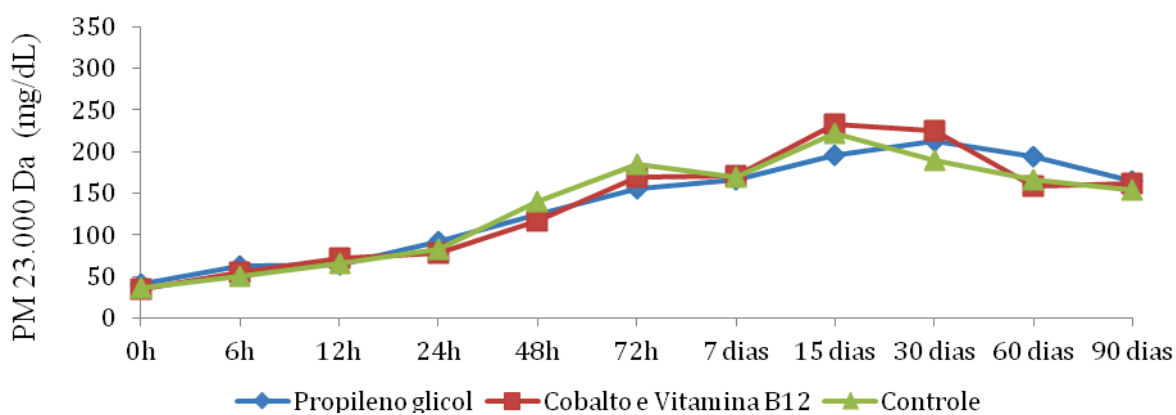


Fig. 10: Valores médios da concentração da proteína de PM 23.000 Da (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

Quadro 7 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das imunoglobulinas (IgG total, IgGCP, IgGCL e IgA) (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | | | | MG |
|------------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Imunoglobulina G (total) (mg/dL) | | | | | | | | | | | |
| | 0 Horas | 6 Horas | 12 Horas | 24 Horas | 48 Horas | 72 Horas | 7 Dias | 15 Dias | 30 Dias | 60 Dias | 90 Dias | |
| G1 | 132,09 ±132,52 | 1014,56 ±635,21 | 1648,59 ±1166,42 | 1329,53 ±1128,22 | 1038,01 ±793,93 | 920,46 ±716,68 | 669,86 ±510,52 | 436,90 ±283,60 | 435,57 ±199,77 | 548,08 ±193,46 | 649,58 ±114,31 | 802,11 ^{b**} |
| G2 | 73,37 ±30,44 | 616,03 ±621,88 | 955,33 ±939,13 | 992,27 ±847,38 | 733,55 ±751,78 | 658,80 ±652,02 | 456,11 ±475,13 | 375,98 ±365,92 | 340,25 ±225,16 | 563,62 ±149,97 | 697,12 ±139,27 | 587,49 ^c |
| G3 | 116,46 ±153,13 | 1110,18 ±1035,25 | 1896,58 ±1547,80 | 1997,96 ±1207,6 | 1792,53 ±1123,28 | 1498,60 ±1048,32 | 1089,27 ±838,28 | 769,24 ±461,09 | 562,35 ±372,46 | 665,66 ±245,07 | 714,94 ±153,55 | 1110,34 ^a |
| MG | 107,31 ^{c*} | 913,59 ^{ab} | 1500,17 ^a | 1439,92 ^a | 1188,03 ^{ab} | 1025,95 ^{ab} | 738,41 ^{ab} | 527,37 ^b | 446,06 ^b | 592,45 ^{ab} | 687,21 ^{ab} | |
| IgG de cadeia pesada (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 113,56 ±103,00 | 749,45 ±427,69 | 1153,19 ±769,55 | 919,95 ±738,58 | 757,38 ±545,62 | 672,35 ±505,59 | 509,27 ±365,58 | 338,19 ±206,22 | 359,12 ±151,44 | 415,50 ±143,90 | 492,07 ±74,05 | 589,09 ^{b**} |
| G2 | 66,84 ±29,59 | 414,37 ±449,12 | 668,99 ±625,34 | 692,47 ±622,90 | 523,52 ±573,01 | 458,05 ±491,73 | 350,27 ±353,50 | 269,20 ±255,40 | 285,34 ±182,87 | 414,43 ±121,92 | 516,57 ±97,94 | 423,64 ^c |
| G3 | 109,40 ±155,30 | 800,79 ±703,25 | 1287,76 ±909,57 | 1367,15 ±683,91 | 1273,24 ±722,39 | 1060,43 ±655,15 | 824,04 ±592,19 | 561,87 ±299,27 | 449,76 ±277,47 | 503,50 ±178,28 | 526,14 ±98,43 | 796,73 ^a |
| MG | 96,60 ^{c*} | 654,87 ^{ab} | 1036,65 ^a | 993,19 ^a | 851,38 ^{ab} | 730,28 ^{ab} | 561,19 ^{ab} | 389,75 ^b | 364,74 ^b | 444,48 ^{ab} | 511,59 ^{ab} | |
| IgG de cadeia leve (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 18,53 ±31,00 | 265,11 ±208,52 | 495,40 ±403,13 | 409,57 ±393,16 | 280,62 ±248,85 | 248,11 ±212,00 | 160,59 ±145,53 | 98,71 ±78,80 | 76,46 ±52,69 | 132,58 ±51,75 | 157,51 ±44,40 | 213,02 ^{b**} |
| G2 | 6,53 ±3,89 | 143,28 ±160,94 | 286,33 ±320,61 | 255,39 ±238,94 | 165,91 ±193,96 | 155,48 ±174,62 | 86,79 ±130,32 | 80,38 ±94,76 | 53,78 ±44,57 | 127,24 ±29,49 | 160,80 ±54,00 | 138,35 ^c |
| G3 | 7,06 ±4,18 | 309,39 ±333,59 | 602,98 ±650,19 | 638,25 ±546,06 | 529,36 ±404,29 | 459,47 ±380,87 | 265,24 ±248,07 | 207,37 ±165,42 | 112,59 ±96,18 | 162,16 ±67,72 | 188,80 ±59,77 | 316,61 ^a |
| MG | 10,71 ^{d*} | 239,26 ^{abc} | 461,57 ^a | 434,40 ^a | 325,30 ^{ab} | 287,69 ^{ab} | 170,87 ^{bc} | 128,82 ^{bc} | 80,94 ^c | 140,66 ^{abc} | 169,04 ^{abc} | |
| IgA (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 51,85±15,30 | 68,66±26,39 | 66,19±27,78 | 64,42±26,53 | 74,27±23,29 | 90,42±22,11 | 84,64±24,45 | 105,88±38,50 | 80,78±14,77 | 102,73±39,09 | 102,55±19,84 | 81,29 ^{a**} |
| G2 | 53,34±11,71 | 79,85±21,30 | 63,42±21,67 | 63,38±7,96 | 71,02±14,51 | 85,14±23,73 | 93,30±26,26 | 104,03±18,67 | 100,71±29,15 | 95,32±49,81 | 83,53±35,26 | 81,12 ^a |
| G3 | 42,68±8,85 | 51,63±18,27 | 52,00±23,76 | 68,71±40,89 | 82,07±46,88 | 93,47±54,42 | 101,24±56,36 | 101,01±58,19 | 104,15±55,34 | 98,82±39,35 | 78,17±24,54 | 80,09 ^a |
| MG | 49,72 ^{c*} | 66,80 ^{bc} | 60,41 ^c | 65,76 ^{bc} | 75,99 ^{abc} | 89,71 ^{ab} | 89,71 ^{ab} | 103,61 ^a | 95,62 ^a | 99,14 ^a | 89,24 ^{ab} | |

* Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças entre momentos; ** Letras maiúsculas distintas na mesma colunas indicam diferenças entre grupos

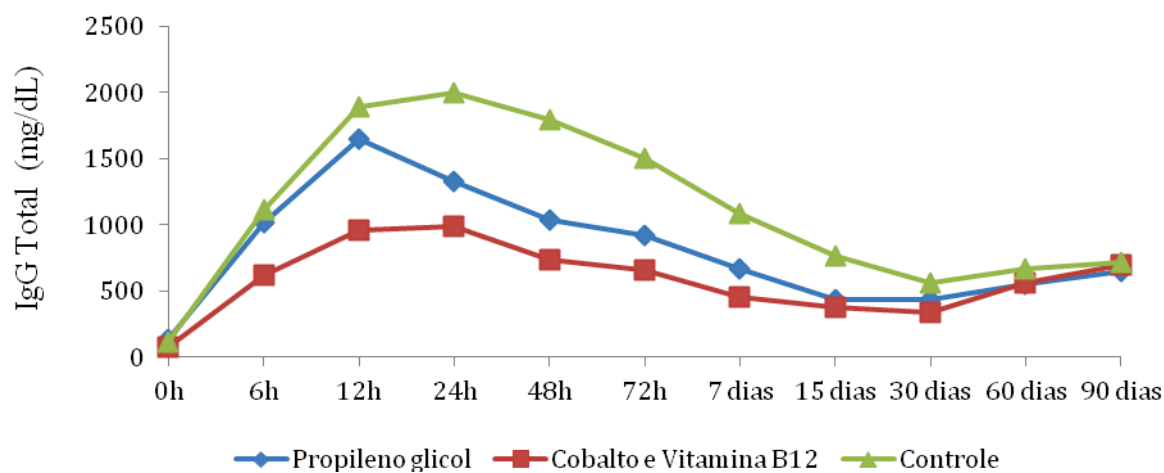


Fig. 11: Valores médios da concentração da imunoglobulina G (IgG total) (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

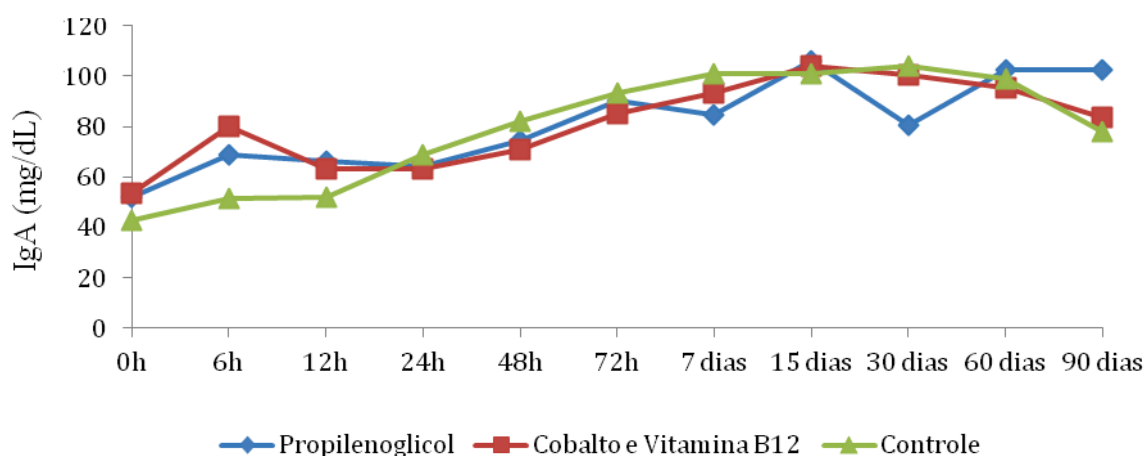


Fig. 12: Valores médios da concentração da imunoglobulina A (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

Quadro 8 – Valores médios, desvios-padrão e médias gerais (MG) das concentrações sanguíneas das proteínas de fase aguda positiva haptoglobina (mg/dL), ceruloplasmina (mg/dL), α 1-glicoproteína ácida (mg/dL) e α 1-antitripsina (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas ou não (G3) com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2) no final da gestação.

| Grupos | Momentos experimentais | | | | | | | | | | | MG |
|--|------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
| | Haptoglobina (mg/dL) | | | | | | | | | | | |
| | 0 Horas | 6 Horas | 12 Horas | 24 Horas | 48 Horas | 72 Horas | 7 Dias | 15 Dias | 30 Dias | 60 Dias | 90 Dias | |
| G1 | 5,54 ±3,37 | 8,10 ±2,22 | 10,46±2,71 | 11,19 ±4,75 | 10,80 ±5,17 | 10,39 ±3,96 | 9,88 ±5,93 | 8,00 ±4,26 | 11,21 ±6,23 | 8,95 ±4,00 | 9,78 ±5,32 | 9,69 ^{a**} |
| G2 | 6,54 ±3,83 | 8,88 ±5,56 | 7,30±3,32 | 8,95 ±6,54 | 8,94 ±5,21 | 10,68 ±4,70 | 9,21 ±3,26 | 9,82 ±5,45 | 10,00 ±6,12 | 8,36 ±6,10 | 9,10 ±5,27 | 8,87 ^a |
| G3 | 4,90 ±3,16 | 8,75 ±3,52 | 9,41±4,76 | 6,89 ±5,97 | 8,19 ±3,99 | 8,27 ±5,68 | 7,12 ±3,04 | 8,34 ±5,50 | 11,54 ±3,64 | 7,65±0 | 9,11 ±4,29 | 8,27 ^a |
| MG | 5,73 ^{b*} | 8,56 ^{ab} | 9,13 ^{ab} | 9,01 ^{ab} | 9,33 ^{ab} | 9,69 ^{ab} | 8,72 ^{ab} | 8,67 ^{ab} | 10,93 ^a | 8,58 ^{ab} | 9,36 ^{ab} | |
| Ceruloplasmina (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 20,30 ±7,23 | 27,04 ±8,36 | 30,33 ±8,76 | 24,74 ±10,50 | 35,93 ±11,25 | 41,55 ±13,75 | 69,65 ±43,73 | 68,57 ±44,38 | 70,94 ±22,07 | 69,18 ±18,57 | 62,40 ±20,50 | 46,54 ^{a**} |
| G2 | 17,92 ±7,75 | 29,76 ±12,73 | 27,39 ±11,08 | 18,07 ±6,82 | 22,94 ±8,42 | 30,64 ±27,30 | 63,63 ±25,91 | 60,14 ±36,78 | 59,29 ±16,65 | 44,60 ±13,30 | 47,52 ±12,98 | 37,99 ^b |
| G3 | 18,10 ±6,85 | 25,07 ±10,88 | 21,27 ±8,07 | 20,95 ±6,56 | 29,47 ±10,45 | 29,83 ±8,31 | 58,52 ±19,30 | 48,56 ±7,05 | 57,34 ±14,62 | 54,69 ±18,07 | 59,96 ±25,25 | 38,09 ^b |
| MG | 18,88 ^{b*} | 27,18 ^b | 26,51 ^b | 21,57 ^b | 29,73 ^b | 34,56 ^b | 64,22 ^a | 60,64 ^a | 62,29 ^a | 55,55 ^a | 56,74 ^a | |
| α 1-glicoproteína ácida (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 5,70 ±2,40 | 4,19 ±3,25 | 6,62 ±3,87 | 8,78 ± 3,28 | 8,64 ± 4,52 | 9,57±3,60 | 6,46 ± 2,09 | 6,28± 2,17 | 9,90± 3,01 | 7,23± 1,85 | 6,69±3,16 | 7,30 ^{a**} |
| G2 | 4,79±1,40 | 4,2±2,58 | 5,68±3,60 | 7,20±4,52 | 6,94±2,81 | 8,76±2,50 | 6,51±2,06 | 9,19±2,64 | 7,56±2,55 | 9,38±3,53 | 6,90±2,01 | 7,01 ^a |
| G3 | 6,05±3,17 | 4,78±3,28 | 4,89±1,06 | 7,78±2,67 | 10,21±5,12 | 9,54±5,83 | 8,72±3,32 | 9,68±3,36 | 7,14±3,31 | 7,61±1,34 | 6,48±2,85 | 7,59 ^a |
| MG | 5,50 ^{cd*} | 4,43 ^d | 5,73 ^{bcd} | 7,95 ^{abc} | 8,67 ^{ab} | 9,31 ^a | 7,26 ^{abc} | 8,54 ^{ab} | 8,26 ^{abc} | 8,05 ^{abc} | 6,70 ^{abcd} | |
| α 1-antitripsina (mg/dL) | | | | | | | | | | | | |
| G1 | 228,12 ±95,71 | 423,35 ±53,22 | 463,69 ±68,53 | 377,23 ±69,23 | 346,35 ±96,74 | 315,19 ±86,32 | 229,53 ±65,90 | 238,83 ±35,47 | 247,40 ±17,50 | 226,22 ±49,62 | 246,26 ±45,95 | 302,99 ^{a**} |
| G2 | 283,69 ±89,91 | 390,34 ±157,71 | 383,77 ±168,99 | 401,74 ±166,89 | 310,74 ±175,69 | 243,30 ±74,35 | 233,23 ±29,24 | 202,83 ±30,65 | 207,42 ±55,73 | 212,29 ±43,65 | 230,00 ±37,88 | 280,20 ^a |
| G3 | 183,66 ±53,67 | 330,54 ±55,17 | 414,83 ±76,73 | 378,98 ±63,81 | 357,12 ±95,51 | 321,15 ±98,97 | 219,99 ±38,59 | 214,85 ±25,54 | 214,22 ±51,79 | 224,65 ±36,81 | 220,13 ±11,93 | 281,82 ^a |
| MG | 236,43 ^{d*} | 383,32 ^{ab} | 425,05 ^a | 385,20 ^{ab} | 339,26 ^{bc} | 292,55 ^{cd} | 227,67 ^d | 219,75 ^d | 224,12 ^d | 221,57 ^d | 233,38 ^d | |

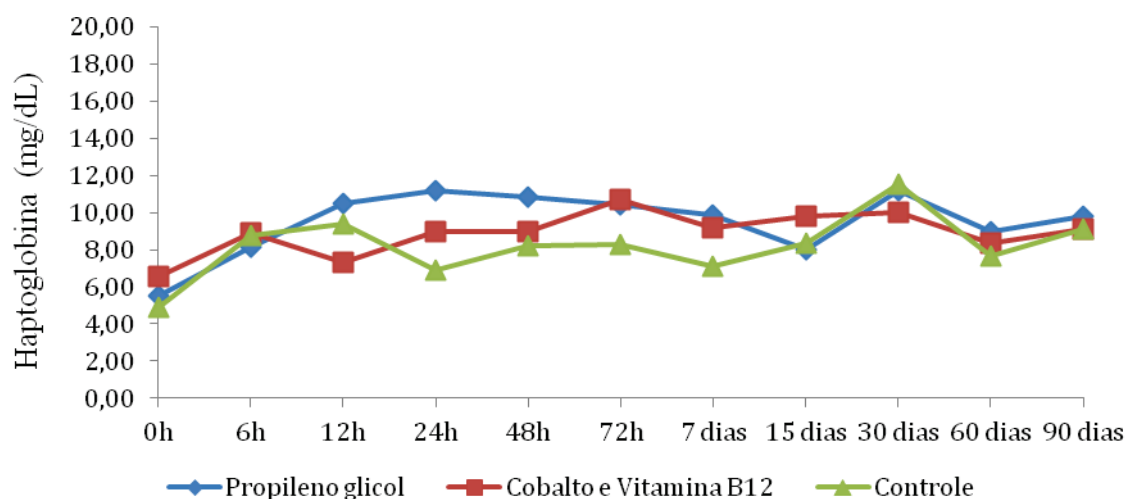


Fig. 13: Valores médios da concentração da haptoglobina (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

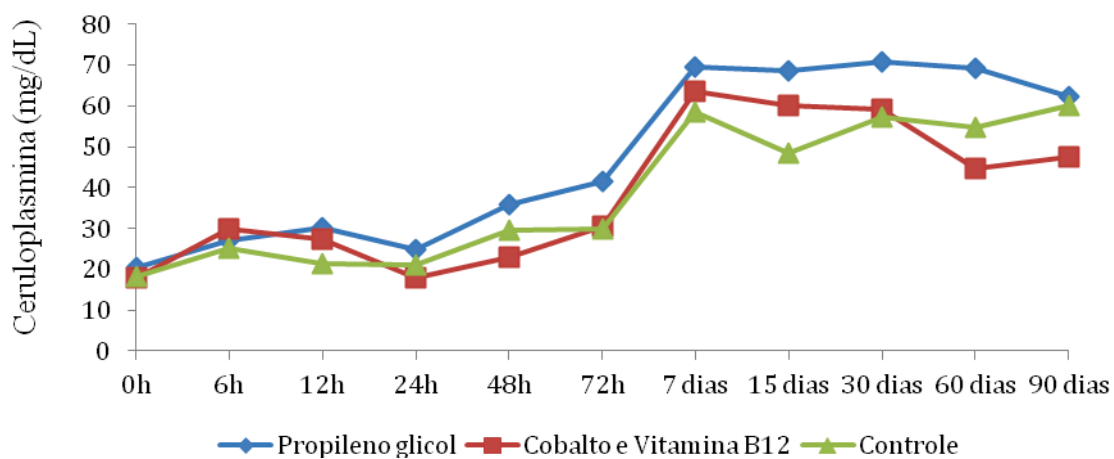


Fig. 14: Valores médios da concentração da ceruloplasmina (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

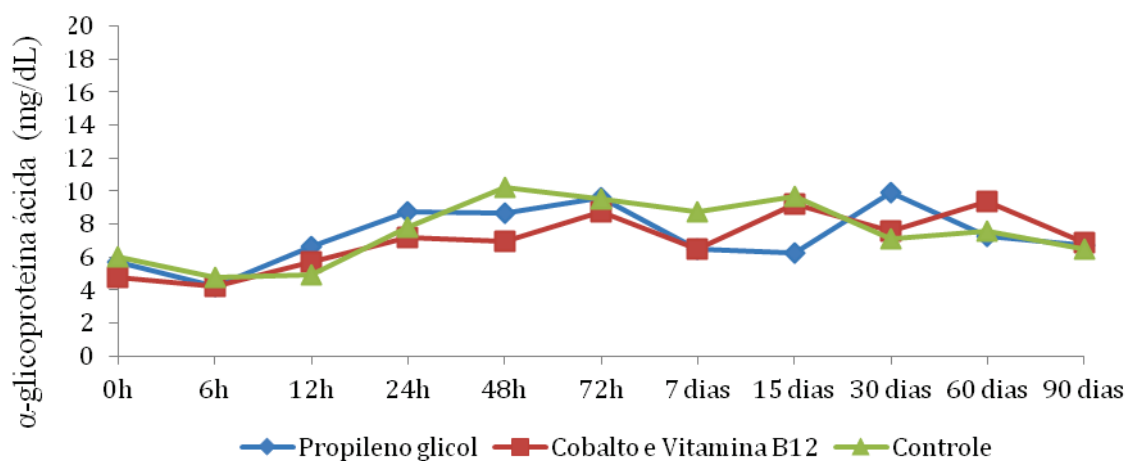


Fig. 15: Valores médios da concentração da α 1-glicoproteína ácida (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

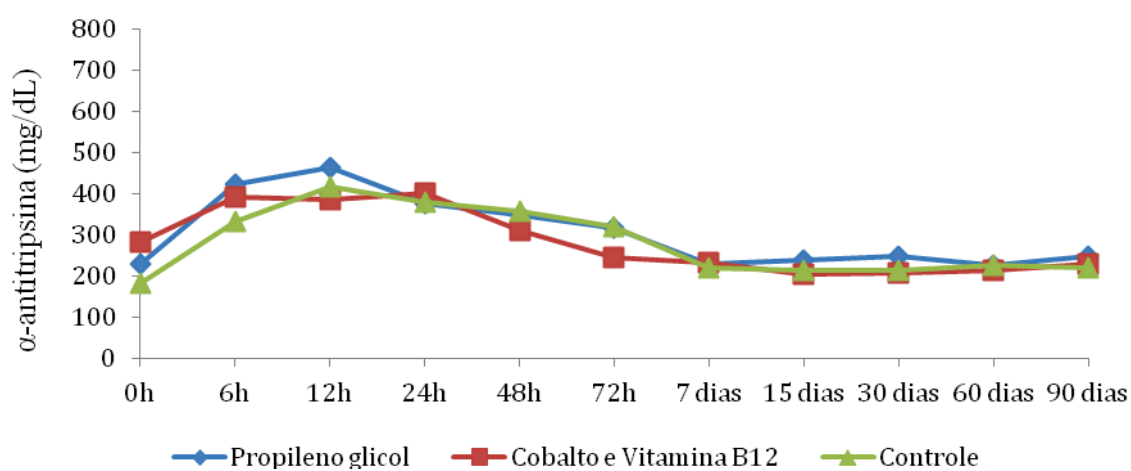


Fig. 16: Valores médios da concentração da α 1-antitripsina (mg/dL) de cordeiros cujas mães foram suplementadas com propileno glicol (G1) e cobalto associado à vitamina B₁₂ (G2).

ANEXOS

Anexo A – Fórmulas e preparo dos reagentes utilizados na execução da eletroforese em gel de poliacrilamida

Para a realização da eletroforese em gel de poliacrilamida, tanto no soro sanguíneo quanto no lácteo, foram utilizados vários reagentes que deveriam ser previamente preparados, conforme a seguir:

TRIS HCl – 2M – pH 8,9 (Gel de Corrida)

| | |
|--|--------|
| Tris Base | 121,1g |
| Completar para 500 mL com água deionizada. | |
| Acertar para pH 8,9. | |
| Filtrar a solução e guardar em geladeira. | |

TRIS HCl 0,617 M (Gel Empilhador)

| | |
|---|--------|
| Tris Base | 7,475g |
| Completar para 100mL com água deionizada. | |
| Acertar para pH 6,8. | |
| Filtrar a solução e guardar em geladeira. | |

ACRILAMIDA/ BIS (30% T/ 1,87%C) para soro sanguíneo

| | |
|---|-------|
| Acrilamida | 73,6g |
| N,N metileno bisacrilamida | 1,40g |
| Completar para 250mL com água deionizada. | |
| Aquecer se necessário. | |

ACRILAMIDA/ BIS (30% T/ 2,67%C) para soro lácteo

| | |
|---|--------|
| Acrilamida para eletroforese Sigma (PM:71,08) | 73,00g |
| N,N-metileno-bis-acrilamida para eletroforese Sigma | 2,00g |
| Água deionizada | 250mL |

EDTA 0,5M

| | |
|---|--------|
| (Etilenodinitrilo) ácido tetracético tetrassódico | 19,01g |
| Completar para 100mL com água deionizada. | |
| Acertar para pH 8,3. | |

LAURIL SULFATO DE SÓDIO (SDS) 10%

| | |
|---|-------|
| Lauril sulfato de sódio Sigma (PM: 288,4) | 10,0g |
| Completar para 100mL com água deionizada. | |

COOMASSIE BLUE 0,2% (BRILLIANT BLUE R – 250)

| | |
|---|--------|
| Metanol | 500 mL |
| Ácido acético | 100 mL |
| Água bidestilada | 400 mL |
| Coomassie blue (Brilliant blue R) | 2,0g |
| Deixar em repouso durante duas horas e filtrar. | |

GEL MIX (TAMPÃO DA AMOSTRA PARA PROTEÍNAS DESNATURADAS)

| | |
|---|---------|
| Lauril sulfato de sódio 10% | 10,0 mL |
| EDTA 0,5 M | 4,0 mL |
| Tris fosfato 0,617 M, pH 6,8 | 5,0 mL |
| Mercaptoetanol | 3,0 mL |
| Glicerol | 10,0 mL |
| Água deionizada | 18,0 mL |
| Azul de bromofenol (Bromphenol Blue) | 5,0 mg |
| Separar em frações de uso (450 ou 900 µL) – manter no freezer até o momento do uso. | |

PERSULFATO DE AMÔNIA 10%

| | |
|--|--------|
| Persulfato de amônia | 0,1g |
| Água deionizada | 1,0 mL |
| (Preparar no momento da confecção do gel). | |

PBS – CÁLCIO FREE (TAMPÃO FOSFATO SALINA)

| | |
|---|---------|
| NaCl | 2,0g |
| KCl | 0,0625g |
| Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O | 0,2875g |
| KH ₂ PO ₄ | 0,050g |
| Completar para 250 mL com água deionizada. | |
| Ajustar o pH para 7,2 – conservar em geladeira. | |

DESCORANTE

| | |
|---|----------|
| Metanol | 250,0 mL |
| Ácido acético | 100,0 mL |
| Completar para 1.000 mL com água deionizada. | |
| Para acelerar o processo de descoloração, os géis podem ser colocados em estufa a 40°C. | |

TAMPÃO DE CORRIDA CONCENTRADO

| | |
|--|------|
| Trizma Base | 30g |
| Glicina | 144g |
| SDS | 10g |
| Completar para 1.000 mL de água destilada. | |

TAMPÃO DE CORRIDA DILUÍDO (tampão de uso na cuba)

Medir 100 mL do tampão de corrida concentrado (10X) e completar o volume para 1.000 mL.

PREPARAÇÃO DAS ALÍQUOTAS DO MARKER E DAS PROTEÍNAS PURIFICADAS

8 µL de marker

2 µL de gel mix

Congelar até o momento do fracionamento ou preparar na hora do uso.

Anexo B – Procedimentos preliminares para a realização da eletroforese SDS - PAGE

Para a realização da eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), foram utilizados dois tipos de gel, um de aplicação e outro de separação. As suas preparações são detalhadas a seguir:

1) Preparação do gel de Separação a 10%

| | |
|-------------------------------------|---------|
| Água deionizada | 11,8 mL |
| Tris HCl 2M, pH 8,8 ± 0,1 | 5,9 mL |
| Acrilamida/Bis | 10,5 mL |
| Glicerol | 1,7 mL |
| EDTA 0,5M, pH 8,3 ± 0,1 | 0,63 mL |
| Lauril Sulfato de Sódio (SDS) a 10% | 0,63 mL |
| Persulfato de Amônio a 10% | 242 µL |
| TEMED | 27 µL |

2) Preparação do gel de Empilhamento a 4%

| | |
|-------------------------------------|---------|
| Água deionizada | 3,95 mL |
| Tris HCl 0,617 M, pH 6,8 ± 0,1 | 0,60 mL |
| Acrilamida/Bis | 1,0 mL |
| Glicerol | 300 µL |
| EDTA 0,5M, pH 8,3 | 123 µL |
| Lauril Sulfato de Sódio (SDS) a 10% | 123 µL |
| Persulfato de Amônio a 10% | 60 µL |
| TEMED | 13 µL |

3) Preenchimento das Placas

As placas de vidro, previamente limpas, desengorduradas e montadas em posição vertical, foram preenchidas com o gel de separação até a altura correspondente ao tamanho do pente, adicionou-se ± 0,6 µL de etanol, esperou por até 60 minutos para a polimerização do gel, removeu o etanol da placa e deixou secar. Adicionou-se o gel de empilhamento e a colocação do pente. Decorridos cerca de uma hora para polimerização do gel, retirou-se o pente, fixou a placa na cuba e adicionou a solução de corrida na parte superior da cuba até cobrir totalmente o gel e por fim adicionou-se a amostra.

4) Preparação das amostras e corrida eletroforética

As amostras foram preparadas adicionando-se 30 µL de PBS, 10 µL de amostra de soro sanguíneo, ou no caso de soro lácteo utilizou-se 20 µL de amostra e 20 µL de gel mix. Após aquecimento sobre água em ebulição, adicionou-se 5 µL de amostra do soro sanguíneo e 6 µL de amostra do soro lácteo, na placa contendo o gel de empilhamento e a solução tampão

de corrida. Depois se procedeu com a conexão da cuba à fonte de energia, regulando para 20 miliampères por gel, após 90 minutos, em 25%. Coloração do gel adicionando-o na solução de Coomassie Blue por 30 a 120 minutos, em seguida a descoloração com ácido acético até a nitidez das proteínas e finalmente sua determinação em densitômetro computadorizado Shimadzu CS 9301.

5) Padrões de Proteína Purificada e de peso molecular

Para se realizar a identificação das frações proteicas no soro sanguíneo foi empregada solução da marca Sigma com pesos moleculares 29.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 daltons (Da), além das proteínas purificadas (albumina, IgG, haptoglobina, α 1-antitripsina e transferrina). No soro lácteo, para a identificação das frações proteicas, foi empregada como referência solução marcadora com diversos pesos moleculares (6.500 – 200.000 Da) e as proteínas purificadas lactoferrina, β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina bovinas.