

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**LEUCOGRAMA E PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE
RUMINANTES DOMÉSTICOS SADIOS E ENFERMOS**

Kalina Maria de Medeiros Gomes Simplicio

Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro de 2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**LEUCOGRAMA E PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE
RUMINANTES DOMÉSTICOS SADIOS E
ENFERMOS**

Kalina Maria de Medeiros Gomes Simplicio

Orientador: Prof. Dr. José Jurandir Fagliari

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro de 2011

S612l Simplicio, Kalina Maria de Medeiros Gomes
Leucograma e proteínas de fase aguda de ruminantes
domésticos sadios e enfermos / Kalina Maria de Medeiros Gomes
Simplicio. -- Jaboticabal, 2011
xiii, 118 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011
Orientador: José Jurandir Fagliari
Banca examinadora: Daniela Gomes da Silva, Luiz Paulo Martins
Filho
Bibliografia

1. Inflamação. 2. Proteínas de fase aguda. 3. Ruminantes. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-002.1:636.2/3

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

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

KALINA MARIA DE MEDEIROS GOMES SIMPLICIO – nascida em 28 de Março de 1981, em Sobral, CE. Formada em Medicina Veterinária e Licenciatura Agrícola pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE, em Dezembro de 2005. Em 2006, ingressou no Programa de Aprimoramento Profissional, do tipo residência, em Clínica Médica Veterinária de Grandes Animais, área de concentração em Clínica Médica de Ruminantes, junto a Clínica de Bovinos de Garanhuns, CBG, Câmpus de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE, onde permaneceu durante dois anos. Em Março de 2009, iniciou o curso de mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV/UNESP (área de concentração em Clínica Médica Veterinária), atualmente em fase de conclusão.

DEDICATÓRIA

A Deus e à minha mãe santíssima, que a todo momento se mostram presentes, sempre demonstrando ter um lindo plano traçado para mim, ainda que isso não esteja ao alcance de minha compreensão em alguns momentos.

Aos meus pais Aurino e Ruth Simplício, meus maiores incentivadores e por mim tão amados e admirados. Sempre estiveram incansavelmente presentes e atuantes na minha jornada, não medindo esforços para meu crescimento e amadurecimento profissional e pessoal, embora na maioria das vezes isso implicasse em ter que estar longe. Eu os amo mais do que jamais poderia verbalizar.

À minha maior amiga, companheira e meu porto seguro, Kamila Simplício, que desconhece em seu dicionário a palavra omissão e que sempre arranja uma forma de me injetar uma dose de ânimo nos momentos de fraqueza e de tornar mais sublime os momentos de alegria.

A vovô “Pindoba”... Tenho certeza de que você sempre esteve presente durante todo o percurso e sinto infinita saudade dos momentos que minha memória ainda consegue guardar.

A todos os mestres, que verdadeiramente fizeram jus ao título em sua essência, me orientando e ajudando a galgar mais esta conquista, em especial ao ‘meu mestre’ Aurino Alves Simplício.

Às queridíssimas amigas com as quais o destino me presenteou Letícia Anai, Luisa Gouveia, Érika Terra, Juliana Evangelista, Andressa Nogueira e Diana Sánchez, que tornaram muito mais leve o fardo da saudade de casa. Sinto-me lisonjeada em tê-las comigo.

Aos animais, em especial aos animais de produção, dos quais se tira tanto sem, muitas vezes, ser a eles propiciado os cuidados mínimos de bem-estar e humanidade a que todo ser vivo deveria ter, de fato, direito.

A meu eterno “primogênito” Pingo, meus dois filhotes Agatha e Liko, e meus dois filhos adotivos Fluffy e Lupi, pelos inspiradores olhares, lambidas, grunhidos, miados e latidos tão reconfortantes e cheios de significado.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof^o. Dr. José Jurandir Fagliari, pelo profissionalismo e ética intocáveis, por ser sereno e firme em mesma proporção. Meu muito obrigado por, de fato, me orientar, com a sabedoria e integridade de um homem de bem.

Ao doutorando André Marcos Santana, por todo o apoio e orientação inquestionavelmente sinceros e sensatos e a todo o carinho dispensado.

À pós-doutoranda Daniela Gomes da Silva, pelo profissionalismo e por tanto bom senso e solicitude repassados sem aparente esforço.

Ao graduando Felipe Cotrim de Sousa, pela presteza, confiabilidade e leveza do ser demonstradas durante toda a fase laboriosa deste estudo.

Aos técnicos do Laboratório de Apoio a Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, Cláudia Nogueira, Renata Nagib Jorge e Paulo César da Silva pela ajuda e disponibilidade sempre tão bem-humoradas.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e a todos os seus funcionários pela oportunidade, acolhida e apoio na realização deste estudo.

À Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

A todos que compõem a Clínica de Bovinos de Garanhuns, técnicos, residentes e funcionários, pelo suporte, solicitude e carinho com os quais fui acolhida durante toda a minha fase de especialização (residência) e por ter sido uma ponte fértil para o mestrado na UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO	x
SUMMARY	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Considerações gerais	2
2.2 Proteínas de fase aguda relevantes em ruminantes	5
2.2.1 Haptoglobina	5
2.2.2 Fibrinogênio	7
2.2.3 Amilóide A sérica	8
2.2.4 α_1 -glicoproteína ácida	9
2.2.5 Ceruloplasmina	10
2.3 Separação e mensuração das frações protéicas	10
2.4 Leucograma	12
2.5 Enfermidades abordadas no estudo	14
2.5.1 Mastite estafilocócica	14
2.5.2 Fotossensibilização e eczema facial	15
2.5.3 Onfaloflebite	16
2.5.4 Ectima contagioso	16
2.5.5 Artrite encefalite caprina	17
3. OBJETIVOS	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1 Animais e grupos experimentais	20
4.2 Colheita de amostras	21
4.3. Exames laboratoriais	22
4.3.1 Leucograma e concentração plasmática de fibrinogênio	22
4.3.2 Proteinograma sérico	22
4.4 Análise estatística	23

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Bovinos	24
5.1.1 Leucograma	24
5.1.2 Proteinograma sérico.....	30
5.2 Ovinos	43
5.2.1 Leucograma	43
5.2.2 Proteinograma sérico	49
5.3 Caprinos	62
5.3.1 Leucograma	62
5.3.2 Proteinograma sérico	67
6. CONCLUSÕES	78
7. REFERÊNCIAS	79
APÊNDICE	99

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Médias e desvios-padrão das contagens de leucócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	27
Tabela 2. Médias e desvios-padrão das contagens de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	28
Tabela 3. Médias e desvios-padrão das contagens de linfócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	29
Tabela 4. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de proteína total (g/dL) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	35
Tabela 5. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	36
Tabela 6. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	37
Tabela 7. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	38
Tabela 8. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	39
Tabela 9. Médias e desvios-padrão das concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da	

	FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	42
Tabela 10.	Médias e desvios-padrão das contagens de leucócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	45
Tabela 11.	Médias e desvios-padrão das contagens de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	46
Tabela 12.	Médias e desvios-padrão das contagens de linfócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	47
Tabela 13.	Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de proteína total (g/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	50
Tabela 14.	Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de ovinos sadios e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	51
Tabela 15.	Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	52
Tabela 16.	Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	56
Tabela 17.	Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	57

Tabela 18. Médias e desvios-padrão das concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	60
Tabela 19. Médias e desvios-padrão das contagens de leucócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	63
Tabela 20. Médias e desvios-padrão das contagens de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	64
Tabela 21. Médias e desvios-padrão das contagens de linfócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	65
Tabela 22. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de proteína total (g/dL) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	67
Tabela 23. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	68
Tabela 24. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	70
Tabela 25. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).....	74

Tabela 26. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	
.....	75
Tabela 27. Médias e desvios-padrão das concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	
.....	76

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema de distribuição dos animais nos grupos experimentais	20
Figura 2. Médias das contagens de leucócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	27
Figura 3. Médias das contagens de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	28
Figura 4. Médias das contagens de linfócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	29
Figura 5. Médias das concentrações séricas de proteína total (g/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	35
Figura 6. Médias das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	36
Figura 7. Médias das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	37
Figura 8. Médias das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	38
Figura 9. Médias das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	39
Figura 10. Médias das concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfalobite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	42
Figura 11. Médias das contagens de leucócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	45

Figura 12. Médias das contagens de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	46
Figura 13. Médias das contagens de linfócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	47
Figura 14. Médias das concentrações séricas de proteína total (g/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	50
Figura 15. Médias das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	51
Figura 16. Médias das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	52
Figura 17. Médias das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	56
Figura 18. Médias das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	57
Figura 19. Médias das concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	60
Figura 20. Médias das contagens de leucócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	63
Figura 21. Médias das contagens de neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	64
Figura 22. Médias das contagens de linfócitos ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	65
Figura 23. Médias das concentrações séricas de proteína total (g/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e	

nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	67
Figura 24. Médias das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	68
Figura 25. Médias das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	70
Figura 26. Médias das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	74
Figura 27. Médias das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	75
Figura 28. Médias das concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)	76

LEUCOGRAMA E PROTEÍNAS DE FASE AGUDA DE RUMINANTES DOMÉSTICOS SADIOS E ENFERMOS

RESUMO – Foi avaliada a importância de proteínas de fase aguda (PFA) como biomarcadores de enfermidades em ruminantes domésticos. Para tal se determinou o proteinograma sérico e leucograma de 15 bovinos sadios e 15 doentes, 15 ovinos sadios e 15 doentes, e 15 caprinos sadios e 15 doentes. Todos foram submetidos a colheitas diárias de sangue durante sete dias, enquanto permaneciam internados no Hospital Veterinário da FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Em bovinos a haptoglobina teve destaque como biomarcador precoce e confiável de foco inflamatório/infeccioso. Em ovinos ceruloplasmina, haptoglobina, α_1 -glicoproteína ácida mostraram moderada atividade frente às enfermidades avaliadas. Caprinos acometidos por ectima contagioso não apresentaram boa responsividade das PFAs. No entanto, ceruloplasmina, haptoglobina, α_1 -glicoproteína ácida destacaram-se como biomarcadores de foco inflamatório/infeccioso em caprinos acometidos por mastite e artrite secundária à infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina. Transferrina, embora tenha se mostrado biologicamente como uma PFA negativa em todos os grupos estudados, apenas apresentou comportamento estatisticamente diferenciado em bovinos acometidos por mastite. Por fim, o proteinograma sérico obtido por meio da técnica eletroforética SDS-PAGE, mostrou-se mais útil como exame complementar ao diagnóstico das enfermidades avaliadas que o leucograma.

Palavras-chave: bovinos, caprinos, inflamação, ovinos e resposta de fase aguda.

WHITE BLOOD CELL COUNT AND ACUTE PHASE PROTEINS OF HEALTHY AND ILL DOMESTIC RUMINANTS

SUMMARY - The importance of acute phase proteins (APP) as biomarkers of disease was evaluated in domestic ruminants. It was determined the serum proteinogram and leucocyte count of 15 healthy and 15 clinically ill cattle; 15 healthy and 15 clinically ill sheep and 15 healthy and 15 clinically ill goats. All animals were submitted to daily blood sampling during 7 days, while kept interned in the Veterinarian Hospital from FCAV-UNESP, Jaboticabal campus. In cattle, haptoglobin was a very reliable inflammatory/infectious early biomarker. In sheep ceruloplasmin, haptoglobin and α_1 -acid glycoprotein showed moderate activity to the diseases studied. Goats with contagious ectima did not show a good response in APP serum concentrations. However, ceruloplasmin, haptoglobin and α_1 -acid glycoprotein showed to be reliable soon biomarkers in goats with mastitis and arthritis due to caprine arthritis encephalitis. Although transferrin biologically behaved as a negative APP in all diseases and species studied, it only showed a statistically significant behaviour as such in cows with mastitis. Moreover, the assessment of APP profile through the electrophoretic SDS-PAGE technique was more useful as a complementary tool to the establishment of diagnosis than the leucocyte count.

Keywords: acute phase response, cattle, goat, inflammation, sheep.

1. INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com a rapidez na identificação e resolução de problemas sanitários nos rebanhos aumentou o interesse no estudo de biomarcadores precoces no cenário da buiatria mundial. Pesquisas realizadas nas últimas décadas mostraram que a quantificação de proteínas de fase aguda (PFAs), no plasma ou no soro sanguíneo, pode fornecer informação útil no diagnóstico, prognóstico e monitoramento de doenças (ECKERSALL, 2000; GONZÁLEZ et al. 2007). As concentrações destas proteínas se alteram em animais submetidos à cirurgia, estresse e, principalmente, enfermidades infecciosas ou inflamatórias. Relata-se que estas proteínas podem ser consideradas indicadores potenciais de doença inflamatória ou do bem-estar em animais, individualmente ou em rebanho (MURATA et al. 2004).

Diferentemente do hemograma, normalmente recomendado como técnica auxiliar de diagnóstico de inflamação e que requer análise imediata da amostra, as concentrações de PFAs são estáveis e as mensurações podem ser realizadas em amostras previamente congeladas. Além disto, são úteis no diagnóstico de doenças inflamatórias em animais com supressão ou depleção da função medular e cujas análises leucométricas e hematimétricas se apresentariam primariamente alteradas (JAIN, 1993).

Segundo SKINNER (2001), pesquisas recentes sugerem que ensaios para a quantificação de PFAs serão utilizados rotineiramente no futuro, a fim de avaliar a saúde animal, otimizar o desempenho produtivo dos indivíduos, monitorar a eficácia de terapias antibióticas, detectar a ocorrência de doenças e também traria benefícios consideráveis à segurança alimentar, por meio da avaliação dos animais no pré-abate.

A monitoração da resposta inflamatória pode ser um desafio clínico, pois nem sempre os sinais de inflamação se manifestam de modo evidente. Deste modo, a utilização de técnicas confiáveis e com boa reprodutibilidade revela-se de grande valia e singular aplicabilidade, especialmente para identificar, diferenciar e quantificar estados inflamatórios em ruminantes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações gerais

A ocorrência de doenças nos rebanhos pode implicar em custos elevados aos produtores, bem como resultar em sérios problemas inerentes ao bem-estar animal, uma consideração importante dada à crescente preocupação com o conforto animal e a segurança alimentar das pessoas. A disponibilização de ferramentas para a vigilância da condição de higiene nos rebanhos pode ser útil em um programa de sanidade, o que leva à necessidade de obtenção de novos indicadores de saúde e doença (GANHEIM et al. 2007).

Estudos em animais domésticos têm levado a identificação de várias proteínas denominadas proteínas de fase aguda (PFAs), descritas originalmente apenas em humanos e em animais de laboratório. Ressalte-se a significativa variação entre espécies com relação à resposta de diferentes proteínas (ECKERSALL & CONNER, 1988; ECKERSALL, 2004). A síntese protéica é estabelecida geneticamente, o que explica esta variabilidade entre espécies e indivíduos, a qual é refletida no perfil eletroforético das proteínas séricas em situação fisiológica (KANEKO et al. 1997).

As PFAs são assim chamadas, porque sua concentração plasmática é alterada rapidamente em processos inflamatórios, traumas cirúrgicos e estresse (JAIN, 1993; MURATA et al. 2004; MURATA, 2007). Em ruminantes, concentrações aumentadas de PFAs, como o fibrinogênio plasmático e a haptoglobina, podem ser indicadores mais sensíveis de um processo inflamatório agudo que mudanças na contagem leucocitária (TAYLOR, 2010). Estas proteínas foram consideradas indicadores potenciais de doença ou bem-estar em animais individualmente, ou do rebanho e podem ser uma ferramenta importante em matadouros com foco na garantia da segurança alimentar (HIRVONEN et al. 1997; SKINNER, 2001; MURATA et al. 2004; PETERSEN et al. 2004).

No estabelecimento da resposta imune inespecífica, estão as reações da resposta de fase aguda (RFA), englobando mecanismos fisiopatológicos, como pirexia,

leucocitose – com leucopenia inicial no caso dos ruminantes – alterações hormonais, depleção de microelementos séricos e proteínas musculares, interagindo entre si com o objetivo de minimizar a lesão tecidual. Esta cadeia de eventos é iniciada com a ativação de macrófagos presentes no tecido lesionado, ou de monócitos e linfócitos sanguíneos, que liberam uma série de mediadores químicos, entre eles as citocinas, as quais atuam sobre fibroblastos e células endoteliais circunvizinhas à lesão intensificando o estímulo à liberação de citocinas. Estas induzem a RFA, que atua local ou sistemicamente. Quando trata-se de resposta local, as citocinas mediam a migração de neutrófilos e células mononucleares até o sítio de inflamação. Sistemicamente, elas atuam sobre o sistema imune, a medula óssea, o cérebro e o fígado, provocando alterações fisiopatológicas, como as citadas acima e alteração da expressão hepática das PFAs (GONZÁLEZ et al. 2007).

A concentração circulante destas proteínas está relacionada à gravidade da disfunção orgânica e, portanto, sua quantificação propicia, prontamente, um meio de avaliar a presença e a extensão do processo inflamatório, em contraposição à dosagem de citocinas, que permanecem na circulação por curto período de tempo e cuja mensuração é onerosa (ECKERSALL, 2000; O'MAHONY et al. 2006).

O estímulo para a produção hepática de PFAs é desencadeado pela liberação de citocinas, como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (FNT- α), a partir de macrófagos e monócitos no local da lesão inflamatória (MOSHAGE, 1997). Na inflamação, o fígado, preferencialmente, produz PFAs em detrimento de outras proteínas, como albumina e transferrina. Em consequência, ocorre redução da relação albumina:globulina (COLE et al. 1997). Vale salientar que doenças inflamatórias subclínicas também podem induzir aumento das concentrações de PFAs (GRÖNLUND et al. 2005). No entanto, fatores como idade, sexo e tipo racial não influenciam as concentrações séricas de PFAs em borregos e em ovelhas nos períodos de pré-parto e da lactação (MATOS, 2005).

Embora as PFAs sejam produzidas principalmente no fígado, estudos relatam a possibilidade de produção extra-hepática destas proteínas, como nos vasos

sanguíneos, adipócitos, tecido mamário, neutrófilos ativados e macrófagos alveolares (FRIEDRICHS et al. 1995; FOURNIER et al. 1999; YANG et al. 2000; THEILGAARD-MONCH et al. 2005; ECKERSALL et al. 2006).

Proteínas cujas concentrações séricas diminuem em resposta à inflamação são denominadas proteínas de fase aguda negativas e incluem albumina e transferrina. Já as proteínas cujas concentrações aumentam sob o mesmo estímulo inflamatório conhecidas como proteínas de fase aguda positivas, como proteína C-reativa, α_1 -glicoproteína ácida, α_1 -antitripsina, α_1 -antiquimotripsina, amilóide A sérica, ceruloplasmina, haptoglobina, α_2 -macroglobina, fibrinogênio e componentes do complemento. As concentrações destas proteínas geralmente são baixas, ou não detectáveis, em animais saudáveis. Portanto, elevações nas concentrações séricas ou plasmáticas de PFAs são utilizadas como auxiliares no diagnóstico e monitoração de doenças inflamatórias. Os tipos de proteínas de fase aguda específicas cujos teores se elevam e o período de tempo em que permanecem elevados variam entre as espécies e de acordo com a enfermidade inflamatória. As concentrações de algumas destas proteínas de fase aguda, como a proteína C-reativa, diminuem rapidamente assim que a inflamação regride, enquanto outras, como o fibrinogênio, demoram dias a semanas para retomar aos valores basais (THOMAS, 2010).

Segundo SKINNER (2001), pesquisas recentes sugerem que num futuro próximo ensaios para mensuração de PFAs serão usados rotineiramente para avaliar a saúde animal, otimizar o desempenho produtivo dos indivíduos, monitorar a eficácia de terapias antimicrobianas e diagnosticar doenças clinicamente inaparentes, como mastite subclínica em vacas leiteiras. Ainda segundo este autor, a mensuração de PFAs também traria benefícios consideráveis à segurança alimentar, por meio da avaliação dos animais no pré-abate.

Os mamíferos possuem potentes mecanismos reguladores da homeostase em constante ação, enquanto a resposta de fase aguda pode estar mais intimamente relacionada à doença inflamatória, sua progressão e a convalescência (ECKERSALL, 2004). Contrastando com análises hematológicas, que são regularmente recomendadas

como técnicas auxiliares de diagnóstico para detecção da inflamação, as PFAs são estáveis e as mensurações podem ser realizadas em amostras previamente congeladas.

2.2 Proteínas de fase aguda relevantes em ruminantes

2.2.1 Haptoglobina

A haptoglobina foi descrita pela primeira vez em 1939 por Polonovski e Jayle, que lhe deram este nome devido a sua afinidade pela hemoglobina (FAGOONEE et al. 2005). É uma glicoproteína tetramérica pertencente à fração α -globulina, com vida média de dois a quatro dias. Tem importância na manutenção da homeostase do ferro, bem como em doenças influenciadas pelo metabolismo férrico ligando-se a hemoglobina livre no plasma, impedindo a excreção renal deste mineral e prevenindo os efeitos oxidativos de sua permanência no vaso sanguíneo (MURATA et al. 2004; COORAY et al. 2007). EATON et al. (1982) atribuíram a esta PFA a função bacteriostática por sua capacidade de ligar-se a hemoglobina livre, indisponibilizando-a como fonte de ferro para o microrganismo agressor.

Os hepatócitos são responsáveis pela síntese de haptoglobina, tendo também sido descrito expressões de haptoglobina mRNA na glândula mamária e em leucócitos de animais saudáveis (COORAY et al. 2007). Ademais, foi demonstrado em animais portadores de mastite clínica e subclínica que as concentrações desta proteína elevam-se drasticamente, tanto no plasma sanguíneo como no leite (ECKERSALL et al. 2001; GRÖNLUND et al. 2005). Embora esteja presente principalmente no plasma, também pode ser observada em outros fluidos como leite, urina e saliva (HISS et al. 2004).

Segundo CONNER et al. (1988), a haptoglobina é a PFA mais estudada em bovinos. Para ECKERSALL (2000), isto também é consequência do desenvolvimento de métodos de análise mais econômicos e simples, uma vez que são baseados em sua capacidade de interação com a hemoglobina e não requerem anticorpos específicos para cada espécie.

Em bovinos, a mensuração de PFAs, especialmente haptoglobina e amilóide A sérica, podem diferenciar melhor as inflamações agudas das crônicas, quando comparadas a testes hematológicos (HORADAGODA et al. 1999). Em concordância, SKINNER & ROBERTS (1994), num estudo com ovelhas, confirmaram que a haptoglobina foi um melhor indicador de infecção bacteriana que o hemograma.

Em ruminantes as provas hematológicas usadas para o diagnóstico de condições inflamatórias, como contagem de leucócitos, oferecem informação limitada já que muitos processos inflamatórios não produzem aumento na contagem de leucócitos e com frequência se observa, inicialmente, leucopenia devido a migração de neutrófilos para a “área foco” da lesão (COLE et al. 1997). A haptoglobina tem alta sensibilidade para a detecção de problemas inflamatórios ou infecciosos nos ruminantes. Em animais saudáveis sua concentração sérica é muito baixa ou indetectável (ECKERSALL et al. 2001), enquanto que em vários estados patológicos há aumentos consideráveis chegando a 100 vezes mais que o seu valor fisiológico (CONNER et al. 1988). Ademais, o aumento desta PFA é rápido, 24-48 horas após o dano tissular (COLE et al. 1997) podendo detectar animais infectados antes da apresentação de sinais clínicos, ou seja, em estado subclínico (GONZÁLEZ et al. 2007).

Elevações consistentes desta proteína têm sido observadas em associação a abscessos, pneumonia e afecções do trato respiratório, endocardite, peritonite, reticulite e pericardite traumáticas, mastite, metrite e enterite (ECKERSALL et al. 2001; REGASSA et al. 2002; PEDERSEN et al. 2003; GRÖNLUND et al. 2005; SVENSSON et al. 2006; GANHEIM et al. 2007; COSTA et al. 2007). SKINNER et al. (1991) estudando enfermidades de ocorrência natural em bovinos relataram que desordens metabólicas, como hipocalcemia e cetose, não provocaram aumento significativo de haptoglobina, embora possa ser uma ferramenta útil quando a desordem metabólica está associada a infecções intercorrentes. Seus níveis séricos podem estar aumentados em vacas sadias por ocasião do parto ou acometidas por lipidose hepática, bem como em bezerros após o estresse do transporte, possivelmente como resultado da resposta ao cortisol ou aos glicocorticóides (THOMAS, 2010).

Para COLE et al. (1997), infecções virais e parasitárias não causam aumentos apreciáveis nos níveis de haptoglobina, discordando de HEEGAARD et al. (2000) que observou aumentos consistentes desta PFA em animais experimentalmente infectados com o vírus respiratório sincicial bovino.

2.2.2 Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma glicoproteína, sintetizada e armazenada no fígado, constituindo cerca de 5,0% do total de proteínas plasmáticas e está primariamente ligado a hemostasia, participando na formação de fibrina, sendo de fundamental importância para o processo de coagulação e reparação tissular (JAIN, 1993; KANEKO et al. 1997; THOMAS, 2010). Esta proteína plasmática é solúvel, porém sob ação da trombina converte-se em um polímero insolúvel resultando em um coágulo de fibrina. É a proteína mais empregada para avaliação da reação de fase aguda em ruminantes, devido à facilidade de mensuração e rapidez na obtenção dos resultados. Ainda nesta espécie, é indicador especialmente útil de inflamação, pois os ruminantes possuem maior capacidade de produzi-lo em resposta à enfermidade, comparativamente às outras espécies, podendo ser indicador mais sensível de inflamação que a leucometria (COLE et al. 1997).

Uma outra função dessa proteína dentro do processo de resposta inflamatória em humanos foi citada por RUBEL et al. (2001), que seria a de aumentar a capacidade de fagocitose após a ativação dos neutrófilos, além de prolongar a apoptose destas células, prolongando sua capacidade funcional. No entanto, deve-se levar sempre em conta a relação proteína plasmática:fibrinogênio (PP:F), que é usada para distinguir hiperfibrinogenemia causada por doença ou associada à desidratação. Isso porque a hemoconcentração produz um aumento relativo de todos os componentes das proteínas plasmáticas, incluindo o fibrinogênio (McSHERRY et al. 1970; JAIN, 1993). De forma geral, relação PP:F menor que 15:1 indica aumento relativo do fibrinogênio comparado com as proteínas plasmáticas. A relação PP:F abaixo de 10:1 indica aumento absoluto de fibrinogênio (JAIN, 1993).

A concentração plasmática do fibrinogênio tende a se manter elevada durante o processo patológico pelo tempo que ele permaneça ativo e até que a demanda não exceda a capacidade de produção hepática. No entanto, sua concentração geralmente retorna aos níveis fisiológicos dentro de alguns dias, após o fim da destruição tissular ativa, deixando uma contínua elevação nas γ -globulinas, caracterizando o processo crônico (COLE et al. 1997).

As maiores e mais consistentes elevações na concentração dessa PFA têm sido observadas em animais com peritonite, pericardite, endotoxemia, septicemia, afecções podais, abscessos hepático, pneumonia, falência renal aguda e neoplasias (COLE et al. 1997; BORGES et al. 2006), porém sua concentração plasmática também pode estar aumentada em resposta ao estresse (JAIN, 1993). A mensuração do fibrinogênio também foi considerada parâmetro confiável para diferenciar reticuloperitonite traumática de outras desordens gastrointestinais em bovinos (HIRVONEN & PYÖRÄLÄ, 1998).

2.2.3 Amilóide A sérica

A amilóide A sérica é uma importante PFA em humanos e animais de laboratório, porém, seu uso como marcador de lesão tissular em medicina veterinária, tem sido limitado pelas dificuldades na sua purificação e quantificação que ocorrem por tratar-se de uma complexa apolipoproteína localizada numa fração lipoprotéica de alta densidade, além do alto valor dos *kits* comerciais utilizados para sua mensuração (HORADAGODA et al. 1999).

Durante a reposta de fase aguda, as concentrações circulantes de amilóide A sérica podem aumentar em até 1000 vezes. Em estágios mais tardios do processo inflamatório, a expressão desta proteína é efetivamente reduzida através do aumento na produção de antagonistas para citocinas como o receptor antagonista para IL-1 e de receptores solúveis de citocinas, resultando no envio de menos sinais pelas citocinas pró-inflamatórias (JENSEN & WHITEHEAD, 1998).

Em trabalhos com humanos, KISILEVSKY et al. (1996) postulou que o principal papel desta proteína na inflamação aguda é aumentar a remoção de colesterol dos sítios de destruição tissular, enquanto que GONNERMAN et al. (1996) propuseram que o seu aumento durante a resposta de fase aguda faria com que lipoproteínas de alta densidade transportassem fosfolípidos e colesterol às células envolvidas no reparo tecidual nos sítios de inflamação (VAN LENTEN et al. 2006).

Para HORADAGODA et al. (1999) e ECKERSALL (2000), a amilóide A sérica é uma valiosa PFA capaz de identificar a ocorrência de focos inflamatórios em bovinos. Um aumento nas concentrações séricas dessa proteína no leite pode ser observado em vacas e ovelhas com mastite (WINTER et al. 2006), assim como no soro de vacas em trabalho de parto ou em bovinos submetidos a estresse físico, sugerindo que a resposta de fase aguda também é ativada por condições não necessariamente relacionadas à inflamação (ALSEMGEEST et al. 1995). SACO et al. (2008), estudando a atuação de haptoglobina e amilóide A sérica como indicadores de estresse em vacas, concluíram que esta última é melhor marcador de estresse que a primeira.

2.2.4 α_1 - glicoproteína ácida

A α_1 -glicoproteína ácida é uma sialoglicoproteína com peso molecular de 41 a 43 kDa sintetizada e secretada principalmente por hepatócitos. No entanto, produção extrahepática dessa proteína tem sido confirmada em células mamárias, macrófagos alveolares, células endoteliais e diferentes tecidos bovinos (FOURNIER et al. 1999; SORENNSSON et al. 1999; LECCHI et al. 2008).

A α_1 -glicoproteína ácida combina funções de ligação e transporte de pequenas moléculas hidrofóbicas com propriedades imunomoduladoras. Estas propriedades incluem a modulação de leucócitos, bem como a expressão de várias citocinas durante o processo inflamatório (RINALDI et al. 2008). Com algumas exceções, a maioria das funções desta PFA converge para a proteção contra danos de tecidos e células durante o processo inflamatório (HOCHEPIED et al. 2003). Esta função protetora é confirmada pela capacidade da α_1 -glicoproteína ácida de reduzir a apoptose de hepatócitos de

ratos e monócitos bovinos, aumentando sua vida útil (CECILIANI et al. 2007). Embora de forma geral a α_1 -glicoproteína ácida, seja considerada uma PFA positiva clinicamente importante na espécie bovina para a monitorização de processos inflamatórios em curso, ECKERSALL et al. (2007) sugeriram, de acordo com o observado num estudo com ovinos acometidos por linfadenite caseosa experimentalmente produzida, que esta proteína pode agir como biomarcador de condições crônicas nesta espécie.

2.2.5 Ceruloplasmina

Ceruloplasmina é uma ferroxidase, sintetizada pelo fígado, com meia-vida plasmática de cerca de quatro dias. Transporta aproximadamente 90,0% do cobre plasmático para o fígado e outros tecidos, sendo cada molécula de ceruloplasmina capaz de ligar-se a seis a oito átomos de cobre (JAIN, 1993). Em decorrência desta íntima relação com o cobre, é possível observar um aumento fisiológico nas concentrações séricas de ceruloplasmina em cordeiros que recebem suplementação contendo este mineral (SENTHILKUMAR et al. 2009). Esta proteína protege, ainda, os tecidos de danos causados por radicais livres mediados pelo ferro e está envolvida em várias atividades anti-oxidantes e citoprotetoras (JAIN, 1993). Também pode agir como agente anti-inflamatório reduzindo a adesão neutrofílica ao endotélio e agindo como um destruidor da peroxidase (SEGELMARK et al. 1997).

A aplicação dessa PFA como biomarcador diagnóstico permanece menos comum que a de outras proteínas de fase aguda, no entanto, tem sido demonstrado ser um bom indicador de infecção em bovinos (SEGELMARK et al. 1997).

2.3 Separação e mensuração das frações protéicas

Segundo KANEKO et al. (1997), o fracionamento eletroforético representa uma das mais confiáveis técnicas de identificação de proteínas sanguíneas, que podem ser classificadas em albumina, α -globulina, β -globulina e γ -globulina. Um aumento das PFAs também pode ser observado através de eletroforese das proteínas séricas e

registro de elevação nas frações α e/ou β (THOMAS, 2010). A albumina é a fração mais homogênea, solúvel, estável e é encontrada em maior quantidade no plasma. Possui a função de manter a pressão colóide osmótica plasmática, além de ser responsável pelo transporte de várias substâncias endógenas e exógenas. É sintetizada no fígado e constitui cerca de 35,0% a 40,0% do total de proteínas séricas (KANEKO et al. 1997).

A fração α -globulina possui lipídeos, hormônios, vitaminas e minerais e nela estão contidas as proteínas antitripsina, transtiroxina, transcortina, protrombina, glicoproteína ácida, lipoproteína, trombina, haptoglobina, ceruloplasmina, macroglobina, HS-glicoproteína, várias enzimas e fatores de coagulação. A fração β -globulina tem grande importância no transporte do colesterol, estrógenos e progesterona. Nela estão contidas a transferrina, hemopexina, lipoproteínas, frações do complemento (C3, C4, C5), além de várias enzimas e fatores de coagulação. A fração γ -globulina é composta por substâncias imunologicamente ativas e a formação de anticorpos depende exclusivamente da porcentagem desta fração protéica no soro. A fração γ -globulina é constituída por imunoglobulinas A, M, E, G e algumas enzimas. Em geral, a IgG representa 85,0% desta fração, sendo responsável pelas modificações da curva de eletroforese (KANEKO et al. 1997).

As técnicas de eletroforese mais utilizadas em Medicina Veterinária têm como matrizes fitas de acetato de celulose ou filmes de agarose. Essas técnicas apresentam valor limitado, pois permitem o fracionamento de apenas cinco a sete grupos de proteínas. Por outro lado, a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), permite identificação de até 20 a 30 bandas protéicas com pesos moleculares que variam entre 24 a 340 KDa. A eletroforese em gel de poliacrilamida é de fácil execução, baixo custo, necessita de micro-quantidade de amostra e possibilita a visualização de concentrações protéicas extremamente baixas. Por meio desta técnica é possível a avaliação de diversas proteínas de fase aguda de interesse na medicina. O emprego da técnica SDS-PAGE pode ser útil na avaliação da cinética das proteínas de fase aguda da resposta inflamatória, facilitando o estabelecimento do diagnóstico das doenças animais, além do prognóstico de

intercorrências no período pós-operatório (FAGLIARI & SILVA, 2002; FAGLIARI et al. 2006).

2.4 Leucograma

A avaliação do hemograma, em especial do leucograma, em ruminantes pode ser um importante aliado do exame clínico. Os animais devem estar calmos e corretamente contidos durante a colheita de amostras sanguíneas a fim de se evitar alterações de artefato, especialmente mudanças leucocitárias devido à liberação endógena de esteróides ou epinefrina e hemólise em consequência de colheitas traumáticas (JONES & ALLISON, 2007).

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. Os linfócitos são também os únicos leucócitos que, rotineiramente, recirculam do sangue para os tecidos e vice-versa. Valores de referência foram estabelecidos, mas existem variações entre laboratórios (JAIN, 1993; KANEKO et al. 1997; JONES & ALLISON, 2007; WEISS & 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 & ALLISON, 2007).

Alguns estudos reportam que bovinos neonatos apresentam contagem total de leucócitos mais elevada que os limites de referência para adultos, embora outras pesquisas com neonatos nesta espécie mostram contagens médias dentro dos parâmetros de referência para adultos (KNOWLES et al. 2000; MOHRI et al. 2007). Bezerros apresentam uma proporção neutrófilo:linfócito (N:L) maior que 1,0 ao nascimento, com rápido decréscimo na contagem de neutrófilos e um acréscimo mais

sutil da contagem de linfócitos, resultando numa proporção N:L similar à observada em adultos por volta de uma semana de vida (JAIN, 1993; JONES & ALLISON, 2007). Esta rápida mudança do quadro leucocitário pode estar relacionada ao estresse do nascimento e a liberação de cortisol, uma vez que não é visto em bezerros nascidos via cesariana (JAIN, 1993). Um decréscimo gradual no número de linfócitos ocorre com o avançar da idade do bezerro (MOHRI et al. 2007). As porcentagens de eosinófilos são relativamente baixas ao nascimento, elevando-se às três semanas de idade e alcançando valores típicos de animais adultos aos dois anos de idade (EGLI & BLUM, 1998).

Mudanças no perfil leucocitário de cordeiros parecem ser similares ao observado em bezerros, com rápido declínio do número de neutrófilos e aumento no número de linfócitos, causando inversão da proporção N:L maior que 1,0 observada ao nascimento. Caprinos neonatos também apresentam um aumento na contagem total de leucócitos do nascimento aos três meses de idade, que refletem tanto aumento no número de linfócitos como uma elevação mais sutil do número de neutrófilos, apresentando um pico com um mês de idade. A relação N:L, que é maior que 1,0 ao nascimento, chega a alcançar 0,3 aos três meses de idade, porém retorna para cerca de 1,0 em adultos. Alguns estudos mostram um aumento gradual na contagem de eosinófilos em cabritos para caprinos adultos (SMITH & SHERMAN, 2009; WEISS & WARDROP, 2010).

SOUZA et al. (2008) e AYRES et al. (2009) não observaram influência do tipo racial na contagem total de leucócitos entre caprinos das raças Saanen, Anglo-nubiana e Parda Alpina. No entanto, outras pesquisas revelaram variabilidade no quadro leucocitário total de bovinos e caprinos em relação ao tipo racial (DARAMOLA et al. 2005; SILVA et al. 2008).

É possível observar em ruminantes um quadro de leucocitose fisiológica, na qual ocorre aumento transitório de leucócitos, causado pela liberação de epinefrina frente a um estímulo estressante, de excitação ou medo como o parto, transporte e manejo agressivo dos animais, dentre outros. Nestes casos, os neutrófilos são maduros e essas

mudanças são observáveis por curtos períodos de tempo, cerca de trinta minutos após o estímulo (JAIN, 1993). Vários trabalhos de pesquisa descrevem as alterações leucocitárias durante o parto em ruminantes (GILBERT et al. 1993; FAGLIARI et al. 1998; CHALHOUB et al. 2000; SAUT & BIRGEL JUNIOR, 2006). No caso da espécie ovina, estas mudanças observadas no leucograma de estresse pré-parto somente retornam aos níveis basais fisiológicos por volta do décimo quarto dia pós-parto (ANOSA & OGBOGU, 1979).

2.5 Enfermidades abordadas no estudo

2.5.1 Mastite estafilocócica

A mastite, que pode ser clínica ou inaparente, é a inflamação da glândula mamária, que pode ser causada por organismos contagiosos - os quais colonizam a glândula mamária e podem se alastrar por intermédio de máquinas de ordenha e ordenhadores – e patógenos ambientais, que normalmente não infectam a glândula mamária, mas podem fazê-lo quando o ambiente em que o animal vive ou a máquina de ordenha estiverem contaminados com tais organismos e estes tiverem acesso a cisterna da teta (REBHUN, 2000). Na maioria das vezes a enfermidade é causada por bactérias e quando não tratada se constitui em sério problema para rebanhos leiteiros com perdas econômicas consideráveis, especialmente devido à redução na produção e no rendimento do leite, gastos com tratamento, descarte do leite, redução da longevidade dos animais e honorários veterinários. Embora várias bactérias sejam capazes de causar mastite, *Staphylococcus aureus* é o mais importante agente etiológico da infecção mamária em vacas, cabras e ovelhas (CONTRERAS et al., 2001; AIRES DE SOUSA et al., 2007; RADOSTITIS et al., 2007).

Mork et al. (2010) verificaram que *S. aureus* está frequentemente presente nas membranas mucosas das narinas e da vagina de cabras leiteiras e que a presença deste patógeno em outros locais do corpo, além da glândula mamária, pode contribuir para a disseminação da bactéria no rebanho e, portanto, tal fato deve ser considerado quando se estabelecem medidas de controle. Em diversos países, a importância do *S.*

aureus sob o ponto de vista de saúde pública tem sido evidenciada por levantamentos epidemiológicos relacionando-o à ocorrência de toxinfecções alimentares. Pesquisas no Brasil indicam o microorganismo como um dos principais contaminantes de leite cru (ALVES et al., 2006).

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram-positiva e anaeróbia facultativa. A elevada persistência das mastites por *S. aureus* está relacionada com a capacidade de produção de exopolissacarídeos que formam uma barreira protetora, a qual limita a eficácia tanto da resposta imunológica quanto dos medicamentos (CONTRERAS et al. 2001).

2.5.2 Fotossensibilização e eczema facial

A fotossensibilização causa perdas substanciais na cadeia produtiva de animais de produção em vários países, inclusive o Brasil, onde *Brachiaria decumbens* é uma das principais plantas forrageiras fornecidas aos animais (FAGLIARI et al. 2007).

Por fotossensibilização entendem-se as manifestações de sensibilidade exagerada dos animais aos raios solares. Há dois tipos de fotossensibilização causadas pela ingestão de plantas: primária e secundária ou hepatógena (PURISCO & LEMOS, 2008). Segundo Schild (2006), há ainda, um terceiro tipo de fotossensibilização, que ocorre em consequência da síntese anormal de pigmentos endógenos, sendo geralmente de origem hereditária.

Na fotossensibilização primária, cujo agente fotodinâmico é exógeno, a planta possui um pigmento que, quando absorvido pela mucosa intestinal, atravessa a barreira hepática, cai na circulação geral indo também à pele onde causa sensibilidade exagerada aos raios solares. Sendo assim, a substância fotodinâmica é ingerida pré-formada, não necessitando de processamento orgânico para provocar a doença. Na fotossensibilização secundária, ou hepatógena, a planta possui uma substância hepatotóxica, que provoca distúrbios no fígado, caracterizados principalmente por bilestase. A filoteritina, um pigmento fluorescente formado a partir da clorofila, em condições normais é eliminada pelo fígado saudável, por meio da bile. Em casos de

fotossensibilização hepatógena, devido à lesão hepática a filoteritina não é metabolizada e passa à circulação sanguínea alcançando a pele, onde então causa sensibilidade exagerada aos raios solares (PUGH, 2005; PURISCO & LEMOS, 2008).

As lesões da fotossensibilização ocorrem mais frequentemente em áreas glabras e em áreas não pigmentadas, ou de pele branca. Pálpebras, focinho, faixas coronárias e outras áreas brancas estão envolvidas com maior frequência. Por esta razão, em pequenos ruminantes a enfermidade é comumente chamada de eczema facial (SMITH, 2006).

2.5.3 Onfaloflebite

Onfalite é a inflamação das estruturas umbilicais que podem envolver artérias umbilicais (onfaloarterite), a veia umbilical (onfaloflebite), úraco ou tecidos imediatamente circunjacentes ao umbigo. Abscessos umbilicais ou a infecção de qualquer dos três componentes do umbigo podem produzir infecção local ou podem ser fonte de septicemia. A fonte de infecção é mais comumente o ambiente externo, associado à incapacidade de transferência passiva (RIET-CORREA, 2006).

Em casos de onfaloflebite o umbigo pode apresentar-se aumentado de volume e drenando material purulento ou seco e com aumento de volume local. Há casos ainda, em que o aspecto externo é completamente normal, entretanto o animal apresenta-se febril e apático. Nestes casos a área umbilical deve ser investigada cuidadosamente, já que em neonatos esta é a principal porta de entrada para patógenos. Sintomas concomitantes de infecção sistêmica como infecção articular, pneumonia, diarreia, meningite ou uveíte podem ser observados (SMITH, 2006).

2.5.4 Ectima contagioso

O ectima contagioso, também conhecido como dermatite pustular viral contagiosa, dermatite pustular contagiosa ou dermatite pustular cutânea, é enfermidade comum de caprinos e ovinos, transmissível ao humano e de distribuição mundial. O agente é um poxvírus, família Poxviridae, subgrupo *parapoxvírus*. A apresentação mais

comum acomete animais jovens com lesões proliferativas crostosas nas junções mucocutâneas da boca e focinho, podendo também ocorrer nas gengivas. Animais mais idosos imunologicamente comprometidos podem ser afetados e as lesões podem ocorrer na faixa coronária, região interdigital, conjuntiva ocular, genitália, úbere ou tetas. Estes últimos locais ocorrem especialmente em cabras e ovelhas amamentando filhotes acometidos (SMITH, 2006).

O poxvirus é cosmopolita e pode permanecer infectante nas crostas presentes no ambiente ao longo de meses ou anos. A transmissão se faz por contato direto ou indireto a partir de contaminantes do ambiente, portanto lotações de animais facilitam a transmissão. A porta de entrada são as abrasões, portanto animais que consomem alimentos grosseiros e forrageiras que causam lesões na mucosa oral são mais acometidos. Sinais clínicos iniciais incluem pápulas, vesículas e pústulas cutâneas. Rapidamente formam-se crostas amarronzadas a pretas, espessas, mais evidentes nas comissuras orais, entretanto as lesões podem espalhar-se. Tipicamente as lesões se curam dentro de 14 a 21 dias, porém podem persistir em animais imunodeprimidos. É comum a instalação de infecção bacteriana secundária (PUGH, 2005; BARROS, 2006).

2.5.5 Artrite encefalite caprina

A síndrome artrite encefalite caprina (CAE) é enfermidade multissistêmica de caprinos causada por um retrovírus não-oncogênico. Ela é amplamente disseminada, inclusive no Brasil, onde há propriedades com alto índice de infecção, exercendo grande impacto sobre a produtividade de caprinos leiteiros (PUGH, 2005).

O vírus pertence à família *Retroviridae*, gênero lentivírus. Há duas principais formas reconhecidas da enfermidade causada pelo vírus da CAE. A primeira, de menor frequência, é a leucoencefalomielite de cabritos com 2 a 6 meses de idade, que se caracteriza por paresia dos membros pélvicos que progride para a paralisia e que pode ascender aos membros torácicos. A segunda é a polissinovite-artrite de caprinos a partir de 6 meses de idade, com a maior parte dos casos ocorrendo em adultos (SMITH, 2006).

A infecção se instala mediante transferência de fluidos que contém macrófagos infectados oriundos de animais doentes. O modo de transmissão mais comum é a ingestão de colostro ou de leite de cabra infectada pelo cabrito. A presença de anticorpos antivirais no colostro não confere proteção, portanto o fornecimento de leite não-pasteurizado aumenta o risco de infecção. Há relatos de transmissão horizontal do vírus. Quando caprinos não-infectados são confinados com caprinos infectados por longo há soroconversão de número significativo de animais. Cabras não-infectadas manifestam soroconversão rapidamente quando são ordenhadas com fêmeas infectadas, talvez em função da transferência do vírus durante a ordenha. Transmissão iatrogênica também é possível (PUGH, 2005).

Estima-se que a ocorrência de artrite clínica é inferior a 25% em animais soropositivos, embora possa ser mais prevalente em alguns rebanhos. As alterações observadas nas articulações são de natureza inflamatória e degenerativa, consistindo de aumento de volume no tecido conjuntivo subcutâneo periarticular a tendões adjacentes, e hiperemia da bolsa e bainhas tendinosas. Há aumento do líquido sinovial e presença de fibrina e coágulos de sangue. Em casos mais avançados, lesões degenerativas estão presentes, caracterizando-se por diminuição do volume do líquido sinovial, focos de degeneração, erosão e necrose articular. As articulações primariamente afetadas são as do carpo, podendo ser uni ou bilateral (SMITH, 2006).

3. OBJETIVOS

Determinar o leucograma e o proteinograma sérico, em especial as proteínas de fase aguda, de bovinos, caprinos e ovinos sadios e portadores de doença aguda de curso recente, com intuito de avaliar a importância destas proteínas como biomarcadores de inflamação ou infecção nestas espécies.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 90 ruminantes domésticos - 45 animais sadios (15 bovinos, 15 ovinos e 15 caprinos) e igual número de animais portadores de enfermidade com quadro clínico agudo recente e de ocorrência natural. O grupo de 15 bovinos doentes foi constituído por cinco animais com mastite estafilocócica, cinco com fotossensibilização hepatógena e cinco com onfaloflebite. O grupo de 15 ovinos doentes constava de cinco animais com mastite estafilocócica, cinco com ectima contagioso e cinco com eczema facial e o grupo de 15 caprinos doentes foi composto por cinco animais com mastite estafilocócica, cinco com artrite secundária à infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina (CAE) e cinco com ectima contagioso (Figura 1). O estudo foi aprovado pela comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/ Câmpus de Jaboticabal, sob número de protocolo 029033-08.

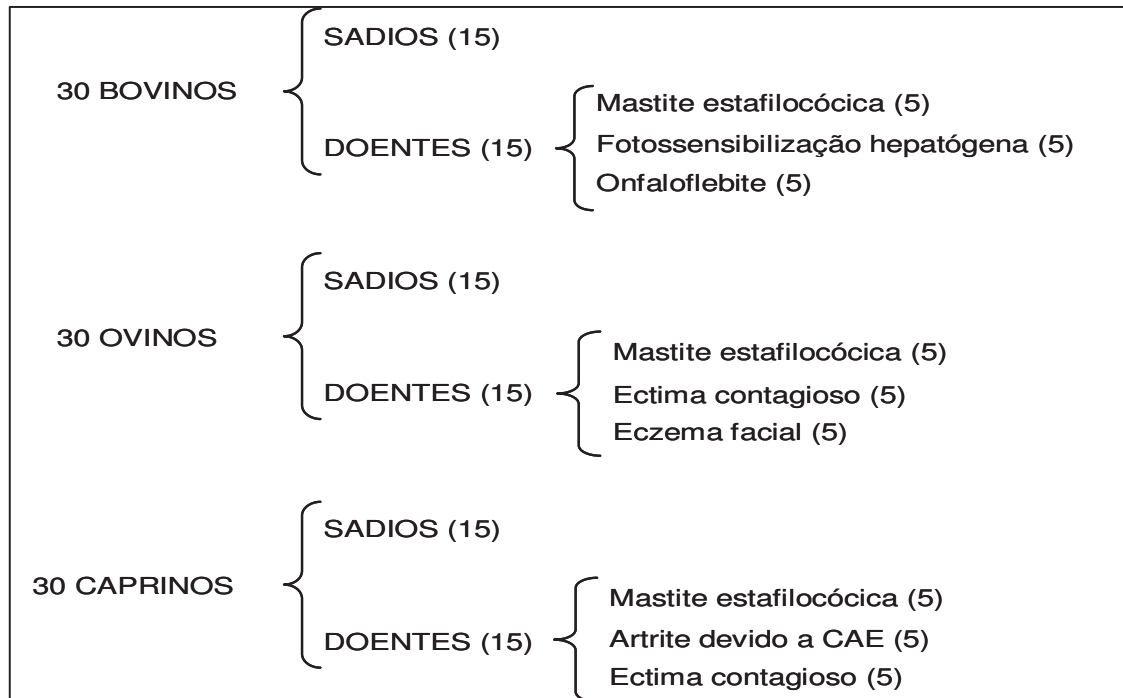


Figura 1. Esquema de distribuição dos animais nos grupos experimentais

A triagem dos animais foi efetuada após realização de exame físico (DIRKSEN et al. 1993; PUGH, 2005) e, quando necessário, complementado por exames auxiliares de diagnóstico. Os animais clinicamente sadios pertenciam ao rebanho da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP/Câmpus de Jaboticabal e os grupos de animais doentes foram constituídos a partir dos pacientes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV. Ao dar entrada ao Hospital Veterinário e definido o diagnóstico os animais eram tratados. As fêmeas com mastite eram submetidas ao tratamento intramamário com 200 mg de gentamicina, uma vez ao dia, durante três dias. Os bovinos com fotossensibilização e os ovinos com eczema facial foram submetidos a dosagem de enzimas hepáticas, AST e GGT, para confirmação do diagnóstico e então recebiam, por via intravenosa, uma mistura de aminoácidos (Mercepton¹) e eram mantidos em ambiente sombreado; os animais com ectima contagioso eram submetidos à limpeza das lesões cutâneas e protegidos da luz solar; os bezerros com onfaloflebite recebiam tratamento local com antimicrobiano e os caprinos com artrite secundária ao vírus da CAE eram mantidos em repouso, sem tratamento. Uma vez incluído no experimento, o animal era submetido a exame físico e colheita de sangue diária, durante seis dias, nominalmente identificados como M1, M2, M3, M4, M5 e M6, respectivamente.

4.2 Colheita de amostras

Amostras de 5 mL de sangue foram colhidas para realização do leucograma e a determinação da concentração plasmática de fibrinogênio, mediante punção jugular, em tubos a vácuo contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (K₂-EDTA). Para obtenção do soro necessário aos exames de componentes séricos foram obtidas amostras de 10 mL de sangue em tubos a vácuo, sem anticoagulante; em seguida, foram centrifugadas e as alíquotas acondicionadas à temperatura de -80°C, para posterior análise laboratorial.

¹ BRAVET®

4.3 Exames laboratoriais

Os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV-UNESP-Câmpus de Jaboticabal.

4.3.1 Leucograma e concentração plasmática de fibrinogênio

A contagem total de leucócitos foi obtida por meio de contador semi automático². A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em esfregaço sanguíneo usando-se a coloração de Wright-Giemsa, segundo técnica descrita por JAIN (1993). Para a mensuração da concentração plasmática de fibrinogênio também foram seguidas as recomendações de JAIN (1993).

4.3.2 Proteinograma sérico

A determinação da proteína sérica total foi realizada pelo método do biureto, empregando-se *kit* comercial³. A separação das frações protéicas foi realizada utilizando-se eletroforese em gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por LAEMMLI (1970) (ver apêndice). Após fracionamento o gel foi submetido a coloração, durante 10 minutos, em solução de azul de coomassie, constituída por 50,0% metanol, 40,0% de água, 9,75% de ácido acético glacial e 0,25% de azul de coomassie. Em seguida o gel foi colocado em solução de ácido acético a 7,0% para retirada do excesso de corante, até que as frações protéicas se apresentassem nítidas. As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado⁴. Como referência foi usada solução marcadora³ com pesos moleculares 29.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 dáltons (Da), além das proteínas purificadas⁵ transferrina, haptoglobina, ceruloplasmina, α_1 -antitripsina e IgG.

² pocH-100 iV, Diff

³ Labtest.

⁴ Shimadzu.

⁵ Sigma.

4.4 Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância, ANOVA. Constatadas diferenças entre as médias, os valores foram comparados pelo teste de Tukey a 5,0% de significância (PETRIE & WATSON, 2009).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para melhor entendimento, os resultados são apresentados em separado, por espécie.

5.1 Bovinos

5.1.1 Leucograma

Nas Tabelas 1, 2 e 3 e Figuras 2, 3 e 4 são apresentadas as contagens de leucócitos, neutrófilos segmentados e linfócitos de bovinos sadios e de bovinos doentes. Em razão da ampla variação nas contagens de monócitos, neutrófilos bastonetes, eosinófilos e basófilos estes valores são apresentados, em forma descritiva, como contagens mínimas e máximas.

As alterações iniciais no leucograma de ruminantes com inflamação aguda representam, provavelmente, as principais respostas leucocitárias em ruminantes. Nas primeiras 24–28 horas do processo inflamatório agudo grave ocorre marcante neutropenia devido ao recrutamento de neutrófilos para o sítio de inflamação e mobilização mais lenta do compartimento de reserva da medula óssea, em comparação com outras espécies (VALLI VEO, 2007). De forma geral, os ruminantes conseguem recompor este quadro leucopênico inicial em cerca de 3–5 dias (JAIN, 1993), período comumente excedido quando os animais são encaminhados ao atendimento veterinário. A leucopenia transitória inicial, citada na literatura como consequência da ação adrenocortical na fase aguda da doença inflamatória/infecciosa, não foi constatada neste trabalho. Isto é, provavelmente, decorrente do fato de que a maioria dos animais estudados, apesar de apresentar quadro clínico recente, já estava enfermo há mais de quatro dias.

No grupo de bovinos acometidos por fotossensibilização constatou-se contagens totais de leucócitos mais elevadas em relação ao grupo sadio, durante todo o período experimental, embora tenham apresentado certa estabilidade dentro do grupo, não

sendo verificadas variações significativas entre os momentos (Tabela 1 e Figura 2). Apesar do aumento significativo em relação aos animais sadios, em nenhum momento a contagem de leucócitos dos animais com fotossensibilização excedeu o limite de referência estabelecido por KANEKO et al. (1997) e WEISS & WARDROP (2010), talvez devido ao restabelecimento dos animais após a retirada do pasto de *Brachiaria decumbens*, responsável pelo desencadeamento da doença, ocorrendo apenas uma resposta leucocitária moderada.

Nos bovinos com mastite verificou-se leucocitose no dia da internação (M1), com valor máximo no dia subsequente (M2). A contagem de leucócitos decresceu, atingindo valor significativamente menor no quarto dia de internação (M4), e seguiu diminuindo até o sexto dia de estudo (M6). Estes resultados corroboram os relatos de JAIN (1993) e WEISS & WARDROP (2010) que afirmaram que o estresse induzido pela liberação de substâncias adrenocorticais no início da doença infecciosa ou inflamatória causa moderada à marcante alteração no quadro leucocitário de bovinos, caracterizado por leucopenia inicial transitória, com retorno aos valores normais, ou até aumento dos leucócitos, após o quarto dia de doença. As contagens leucocitárias dos animais com mastite foram superiores, quando comparados àquelas dos animais do grupo sadio, em 122%; 125%; 91%; 62% e 32%, no dia da internação (M1) e nos quatro dias subsequentes (M2), (M3), (M4) e (M5), respectivamente (Tabela 1 e Figura 2).

Nos bovinos com onfaloflebite constatou-se resposta leucocitária semelhante àquela apresentada pelos bovinos com mastite, durante todo o período experimental, ilustrando o processo inflamatório em curso (Tabela 1 e Figura 2). Não foram encontrados estudos semelhantes na literatura compilada.

Os animais acometidos por fotossensibilização apresentaram contagens de neutrófilos segmentados significativamente superiores aos dos animais do grupo sadio, com valores estáveis nos momentos avaliados. Bovinos com mastite ou onfaloflebite apresentaram resposta similar ao observado na contagem total de leucócitos para as respectivas enfermidades. Porém, nas vacas com mastite, no último dia de internação (M6), notou-se redução significativa dos valores, situação não observada nos animais

com onfaloflebite, os quais apresentaram contagens de neutrófilos segmentados sem alterações significativas durante todo o período experimental. Estes resultados se assemelham ao relatado por BORGES et al. (2006) que, em estudo sobre valores leucocitários de bovinos com pododermatite, não notaram variações marcantes quanto à contagem de neutrófilos segmentados. Portanto, embora o animal apresente quadro clínico agudo após 3 – 5 dias do início da injúria tissular, as contagens de neutrófilos mostram relativa estabilização dos valores, caso o estímulo inflamatório não se mantenha severo (Tabela 2 e Figura 3).

Quanto à contagem de linfócitos, os animais com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite apresentaram valores semelhantes, com diminuição significativa da contagem de linfócitos em relação àqueles sadios (Tabela 3 e Figura 4). FAGLIARI (2003) também relatou diminuição na contagem de linfócitos de bezerros experimentalmente infectados com *Mannheimia haemolytica* já a partir de 4 horas após a infecção. KIDD (1991) afirmou que em resposta à atividade adrenal, na fase aguda, ocorre destruição de linfócitos resultando em linfopenia, condição também observada por BORGES et al. (2006), em estudo sobre os valores leucocitários de bovinos com pododermatite. No entanto, apesar da contagem de linfócitos dos animais doentes apresentar-se significativamente diminuída em relação aos animais sadios do presente estudo, para KANEKO et al. (1997) estes valores não são ilustrativos de um quadro de linfopenia em ruminantes.

Não foram encontrados neutrófilos bastonetes ou basófilos nos esfregaços sanguíneos dos bovinos dos animais sadios e doentes. O número de eosinófilos do grupo sadio variou de 79 a 684 e do grupo doente de 113 a 618 células/ μ L; em alguns animais não se constatou esse tipo celular. O número de monócitos nos animais sadios variou de 74 a 237 células/ μ L e de 93 a 346 células/ μ L naqueles doentes, sendo nulo em cerca de metade dos animais.

Tabela 1. Médias e desvios-padrão das contagens de **leucócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	6,8 $\pm$ 2,21 ^{Aa}	7,1 $\pm$ 1,85 ^{Aa}	7,0 $\pm$ 2,17 ^{Aa}	6,8 $\pm$ 1,90 ^{Aa}	7,2 $\pm$ 2,01 ^{Aa}	6,9 $\pm$ 1,86 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	9,2 $\pm$ 3,3 ^{Ba}	8,4 $\pm$ 2,64 ^{Ba}	8,1 $\pm$ 2,13 ^{Ba}	7,0 $\pm$ 2,9 ^{Ba}	7,5 $\pm$ 2,68 ^{Ba}	7,2 $\pm$ 2,25 ^{Ba}
Mastite	15,1 $\pm$ 4,15 ^{Ca}	16,0 $\pm$ 3,37 ^{Ca}	13,4 $\pm$ 4,0 ^{Cab}	11,0 $\pm$ 3,26 ^{Cb}	9,5 $\pm$ 3,09 ^{Cbc}	8,3 $\pm$ 2,87 ^{Cc}
Onfaloflebite	13,7 $\pm$ 3,60 ^{Ca}	14,7 $\pm$ 2,92 ^{Ca}	11,3 $\pm$ 3,16 ^{Cab}	9,2 $\pm$ 2,93 ^{Cb}	8,2 $\pm$ 2,50 ^{Cb}	7,6 $\pm$ 2,47 ^{Cb}

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

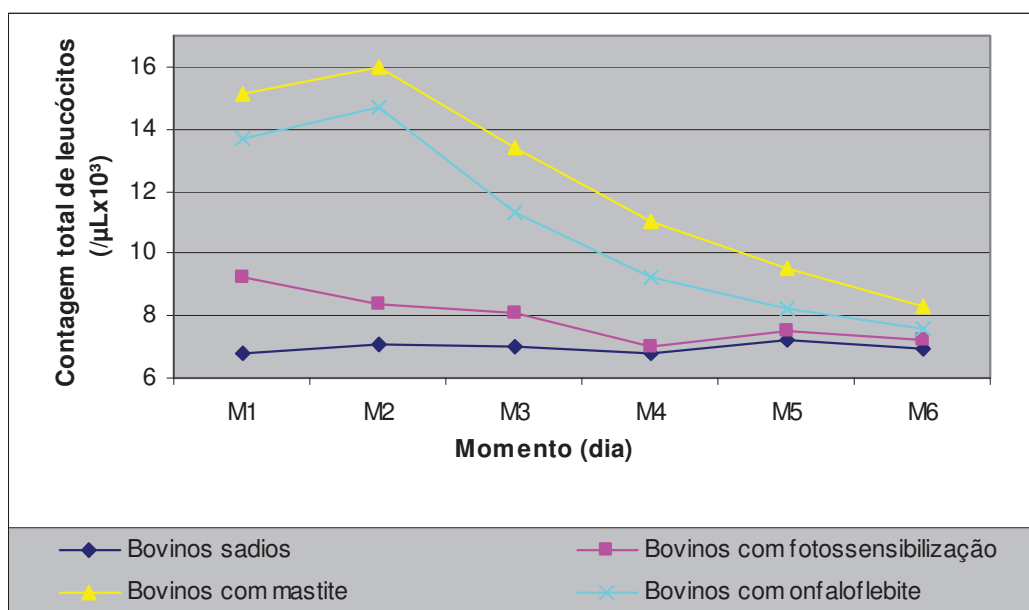


Figura 2. Médias das contagens de **leucócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 2. Médias e desvios-padrão das contagens de **neutrófilos segmentados** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	1,8 $\pm$ 0,39 ^{Aa}	2,1 $\pm$ 0,55 ^{Aa}	1,9 $\pm$ 0,41 ^{Aa}	2,2 $\pm$ 0,62 ^{Aa}	1,8 $\pm$ 0,34 ^{Aa}	1,7 $\pm$ 0,58 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	3,3 $\pm$ 0,93 ^{Ba}	3,0 $\pm$ 0,74 ^{Ba}	2,7 $\pm$ 1,05 ^{Bb}	2,9 $\pm$ 0,85 ^{Bab}	3,2 $\pm$ 1,15 ^{Ba}	2,8 $\pm$ 0,92 ^{Bab}
Mastite	5,2 $\pm$ 1,13 ^{Ca}	5,5 $\pm$ 1,35 ^{Ca}	4,8 $\pm$ 1,00 ^{Ca}	4,3 $\pm$ 0,79 ^{Ca}	4,0 $\pm$ 1,05 ^{Bab}	3,4 $\pm$ 0,89 ^{Bb}
Onfaloflebite	4,5 $\pm$ 1,22 ^{Ca}	4,4 $\pm$ 0,95 ^{Ca}	3,7 $\pm$ 0,76 ^{Ca}	4,0 $\pm$ 1,10 ^{Ca}	3,6 $\pm$ 0,95 ^{Ba}	3,1 $\pm$ 1,05 ^{Ba}

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

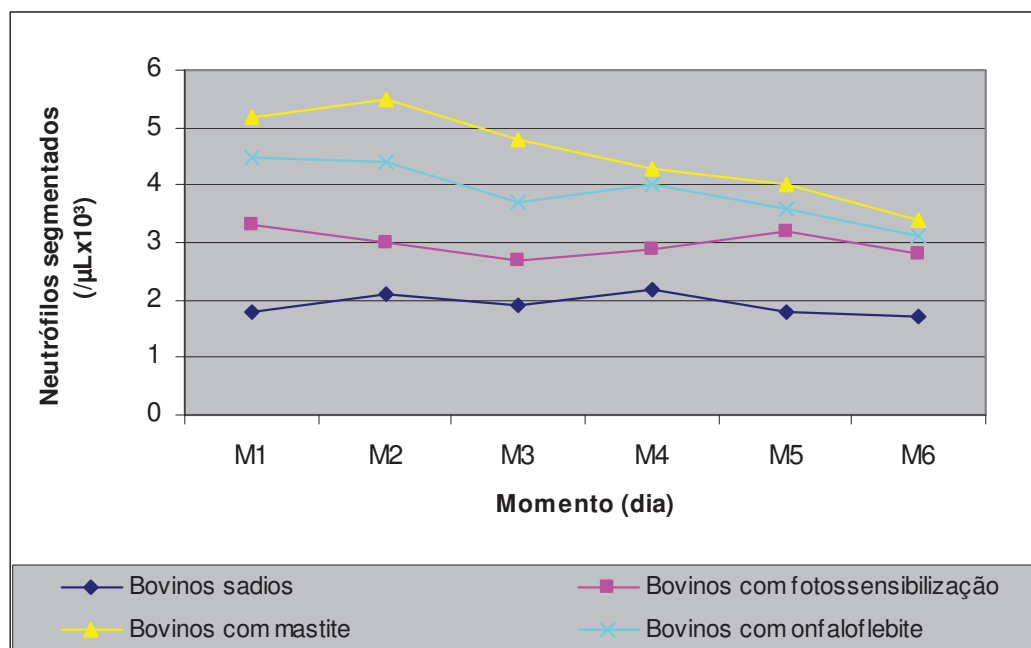


Figura 3. Médias das contagens de **neutrófilos segmentados** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 3. Médias e desvios-padrão das contagens de **linfócitos** ($\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	4,7 $\pm$ 1,22 ^{Aa}	4,1 $\pm$ 1,52 ^{Aa}	4,9 $\pm$ 1,16 ^{Aa}	4,3 $\pm$ 0,97 ^{Aa}	4,7 $\pm$ 1,32 ^{Aa}	4,4 $\pm$ 0,88 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	1,4 $\pm$ 0,36 ^{Ba}	1,7 $\pm$ 0,55 ^{Ba}	1,5 $\pm$ 0,42 ^{Ba}	1,8 $\pm$ 0,61 ^{Ba}	1,9 $\pm$ 1,05 ^{Ba}	1,8 $\pm$ 0,94 ^{Ba}
Mastite	1,6 $\pm$ 0,52 ^{Ba}	1,4 $\pm$ 0,43 ^{Ba}	1,8 $\pm$ 0,51 ^{Ba}	2,0 $\pm$ 0,72 ^{Ba}	2,2 $\pm$ 0,87 ^{Ba}	1,9 $\pm$ 0,75 ^{Ba}
Onfaloflebite	1,8 $\pm$ 0,48 ^{Ba}	1,6 $\pm$ 0,57 ^{Ba}	2,0 $\pm$ 0,78 ^{Ba}	1,8 $\pm$ 0,59 ^{Ba}	2,0 $\pm$ 0,77 ^{Ba}	1,7 $\pm$ 0,63 ^{Ba}

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

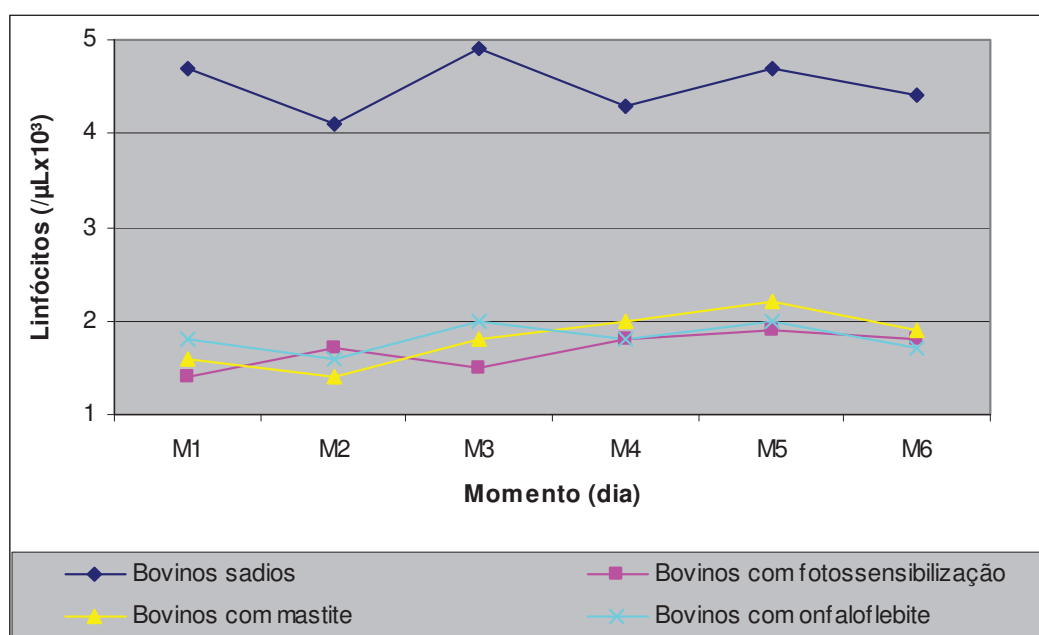


Figura 4. Médias das contagens de **linfócitos** ($\mu\text{L} \times 10^3$) de bovinos sadios e de bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

5.1.2 Proteinograma sérico

Na Tabela 4 e Figura 5 são apresentadas as concentrações séricas de proteína total de bovinos sadios e bovinos doentes. Os resultados não mostraram diferença significativa entre os diferentes momentos avaliados ou entre bovinos do grupo doente - com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite - e bovinos do grupo sadio, embora os animais com mastite tenham apresentado tendência a uma maior concentração sérica de proteína total. De forma geral, os animais acometidos por mastite, apresentaram resposta singular quanto ao proteinograma quando comparados àqueles com fotossensibilização ou onfaloflebite. Isto, possivelmente, é decorrente do estímulo inflamatório mais intenso e persistente.

Nas Tabelas 5 a 10 e Figuras 6 a 11 são mostradas as concentrações séricas das cinco proteínas de interesse verificadas no soro sanguíneo de bovinos sadios e de bovinos doentes, que foram submetidas à análise estatística devido sua importância diagnóstica, ou seja, ceruloplasmina, transferrina, haptoglobina, α_1 -glicoproteína ácida e fibrinogênio. À exceção da transferrina, uma proteína de fase aguda negativa, isto é, sua concentração sérica diminui frente ao estímulo inflamatório, todas estas proteínas são consideradas proteínas de fase aguda positiva (THOMAS, 2010) e, assim como afirmam, JAIN (1993), TAYLOR (2010), ECKERSALL (2004) e BORGES et al. (2006), são indicadores confiáveis de doença inflamatória aguda ou ativa, podendo ser indicadores mais sensíveis que o leucograma. Essa assertiva encontra amparo, ainda, no estudo realizado por GANHEIM et al. (2003), com bovinos experimentalmente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina e por *Mannheimia haemolytica*, no qual os autores relatam que em vários momentos do estudo os sinais clínicos foram muito sutis e o processo inflamatório/infeccioso seria despercebido caso não fosse realizada a mensuração das PFAs, que mostraram-se significativamente elevadas.

Nos bovinos com fotossensibilização notou-se um aumento inicial na concentração sérica de ceruloplasmina de 3,5 vezes em relação aos animais sadios. A concentração sérica diminuiu, atingindo valores significativamente menores no terceiro

dia de internação (M3) e mantendo estabilidade até o final do estudo (Tabela 5 e Figura 6). Estes resultados corroboram os achados de FAGLIARI et al. (2007), que também estudaram casos naturais de fotossensibilização em bovinos e constataram aumento da ordem de 309,1% nas primeiras 24 horas após o início dos sinais clínicos. No presente estudo constatou-se aumento inicial de 349,0% em relação ao grupo controle. Este fato ilustra o potencial da ceruloplasmina como biomarcador precoce de focos inflamatórios em bovinos, embora ainda seja pouco estudada como tal em ruminantes. Embora os animais com fotossensibilização apresentem comprometimento hepático, o percentual de aumento dos níveis séricos de ceruloplasmina foi relativamente similar ao observado por FAGLIARI (2003), em animais com pneumonia experimentalmente induzida com *Mannheimia haemolytica*, e por FAGLIARI et al. (2007) em casos naturais de fotossensibilização.

Vacas com mastite apresentaram as maiores concentrações séricas de ceruloplasmina, com aumento inicial de 4,3 vezes em relação ao grupo sadio. Esses valores decresceram nos dias subsequentes, sendo significativamente menores apenas no último momento experimental. Ainda assim, as médias mantiveram-se elevadas em relação aos animais sadios (Tabela 5 e Figura 6), em concordância com CONNER et al. (1986) que descreveram esta proteína como uma PFA positiva em casos de mastite na espécie bovina.

Nos bovinos com onfaloflebite notou-se menores, porém significativas, elevações nas concentrações séricas de ceruloplasmina. O aumento inicial foi de 2,6 vezes em relação aos animais sadios e decresceu ao longo do estudo (Tabela 5 e Figura 6). Essa menor responsividade dos animais com onfaloflebite à mudanças nas concentrações séricas de ceruloplasmina – e das outras PFAs avaliadas neste estudo, como será observado a seguir – pode ser decorrente de uma reação inflamatória mais localizada, não envolvendo mudanças fisiopatológicas sistêmicas contundentes como observado nas outras duas enfermidades estudadas, fotossensibilização e mastite. Entretanto, não foram encontrados na literatura consultada estudos que abordassem o assunto em questão.

Quanto às concentrações séricas de transferrina, observou-se, de forma geral, diminuição inicial em todos os animais doentes, com posterior elevação ao longo do período de estudo. No entanto, embora os valores séricos desta proteína de fase aguda negativa tenham sido biologicamente menores em todos os bovinos doentes, eles só foram significativamente menores em relação ao grupo sadio em animais com mastite, que a partir do quinto dia de avaliação (M5) apresentaram elevação das suas concentrações séricas, assemelhando-se às concentrações dos animais sadios (Tabela 6 e Figura 7). Essa diminuição inicial nos teores séricos de transferrina a caracterizam como proteína de fase aguda negativa, conforme citado por JAIN (1993) e SANDHOLM & KORHONEN (1995). A redução desta PFA representa um mecanismo de defesa do animal, considerando que esta proteína sequestra íons férricos, que podem servir como substrato para diversos microrganismos (MURATA et al. 2004). Acredita-se que essa função bacteriostática da transferrina esteja relacionada à maior avidéz desta pelo ferro em pH 6,4 a 6,7, facilitando a transferência deste microelemento do plasma para o leite (De JONG et al. 1990). Sabe-se que a glândula mamária da vaca aumenta a síntese de lactoferrina, isômero da transferrina no leite, quando exposta à bactérias, sendo relatado que alto teor de lactoferrina na glândula mamária de vacas secas contribui para a resistência à invasão de patógenos (SMITH & SCHANBACHER, 1977). Para TIZARD (2002), a concentração de transferrina aumenta quando há diminuição do teor sérico de ferro, situação que pode ocorrer nas infecções causadas por *S. aureus*, que necessita deste mineral para sua multiplicação.

Nos bovinos acometidos por fotossensibilização foram constatadas concentrações séricas de haptoglobina marcadamente superiores àquelas de bovinos sadios, atingindo um pico no segundo dia de internação (M2), o que representou um aumento de 333,3% em relação ao grupo sadio (Tabela 7 e Figura 8). Este aumento foi estatisticamente semelhante ao observado por FAGLIARI et al. (2007), em estudo com bovinos acometidos por fotossensibilização induzida experimentalmente. Estes autores citaram que a haptoglobina foi a PFA cujo aumento sérico foi o mais relevante em relação a outras PFAs avaliadas, entre elas ceruloplasmina e α_1 -glicoproteína ácida, o

que ratifica os resultados aqui obtidos. Concluíram, ainda, que ensaios para a mensuração de PFAs, como a haptoglobina, podem ser úteis tanto para acompanhamento da resposta do animal quanto para orientar uma possível mudança no protocolo terapêutico, fato este que também foi constatado neste trabalho, no qual foi possível notar a resposta positiva dos animais à terapia instituída no hospital veterinário após a internação. As concentrações séricas de haptoglobina decresceram após o pico, sendo significativamente menores apenas no último dia avaliado (M6), embora ainda tenham se mantido significativamente elevadas em relação aos animais sadios, reforçando o que cita a literatura quanto à marcante resposta dos bovinos no que tange a elevações nos níveis desta proteína frente a estímulos inflamatórios sendo, consequentemente, uma das PFAs mais estudada nesta espécie (SKINNER et al. 1991; HIRVONEN & PYÖRÄLÄ, 1998).

Os bovinos com mastite apresentaram as maiores concentrações séricas de haptoglobina, atingindo um pico no terceiro dia de internação (M3), o que refletiu num aumento de 5,1 vezes em relação ao grupo sadio. As concentrações séricas decresceram a partir deste momento, atingindo valores significativamente menores no quinto dia de internação (M5), decrescendo até o final do estudo (Tabela 7 e Figura 8). Em concordância com este resultado, NIELSEN et al. (2004) também encontraram concentrações de haptoglobina aumentadas em vacas com mastite clínica e citaram esta proteína como uma das principais PFAs na espécie bovina. SUOJALA et al. (2008), embora tenham realizado infecção experimental com bactérias do gênero *E. coli*, observaram um pico dos níveis de haptoglobina entre 60 e 68 horas após a inoculação, enquanto no presente estudo este pico foi verificado às 72 horas do início do curso clínico da doença. Ainda segundo estes autores, houve declínio das concentrações séricas desta PFA por volta do sexto dia pós-inoculação, enquanto que no estudo em tela decréscimo significativo foi verificado no quinto dia de internação.

Aumentos relevantes nos teores de haptoglobina já foram também registrados por OHTSUKA et al. (2001), ao estudar a resposta de fase aguda em vacas acometidas por mastite de ocorrência natural, e por COLLA et al. (2009) ao estudar o valor

diagnóstico da haptoglobina em casos de mastite subclínica em vacas leiteiras. Os autores ressaltaram a correlação positiva existente entre a severidade da lesão e os níveis séricos de haptoglobina, assim como SINGH & PACHAURI (2002) que descreveram a correlação direta entre o seu teor plasmático e a extensão da lesão no tecido mamário. Por fim, vários autores já demonstraram a correlação positiva existente entre a severidade dos sinais clínicos da mastite e as concentrações séricas de haptoglobina (SPOONER & MILLER, 1971; CONNER et al. 1986; HEEGAARD et al. 2000).

Nos bovinos com onfaloflebite as concentrações séricas de haptoglobina apresentaram-se superiores à dos animais sadios, embora a resposta tenha sido mais discreta que a dos outros animais doentes, como foi comentado anteriormente. As concentrações diminuíram ao longo do período de estudo (Tabela 7 e Figura 8).

Nos bovinos com fotossensibilização foram verificadas concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida superiores à dos bovinos sadios. No segundo dia de internação (M2) constatou-se um pico nas concentrações séricas, refletido num aumento de 2,5 vezes em relação ao grupo sadio. A partir daí, as concentrações decresceram (Tabela 8 e Figura 9). FAGLIARI et al. (2007) também encontraram aumentos significativos nas concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida em bovinos acometidos por fotossensibilização. Os autores relataram aumentos com cifras de 146,2% em comparação a bovinos sadios, enquanto que neste estudo foi observado aumento de 251,9% em relação ao grupo sadio.

Os animais com mastite apresentaram valores médios de α_1 -glicoproteína ácida superiores ao grupo sadio durante todo o período experimental. Foi constatado aumento de 3,6 vezes em relação aos animais sadios no terceiro dia de experimento (M3), quando houve pico nas concentrações séricas desta proteína, decrescendo posteriormente (M6) (Tabela 8 e Figura 9). Este resultado ratifica as afirmações de MURATA et al. (2004), que consideram esta proteína um importante biomarcador no monitoramento clínico de processos inflamatórios de bovinos e contrapõe ALSEMGEEST et al. (1995), que comparando reações inflamatórias agudas e crônicas

em bovinos, concluíram que a α_1 -glicoproteína ácida está mais associada a condições crônicas.

Tabela 4. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **proteína total** (g/dL) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	6,3±0,74 ^{Aa}	6,8±0,66 ^{Aa}	6,5±0,87 ^{Aa}	6,2±0,85 ^{Aa}	6,6±0,93 ^{Aa}	6,3±0,71 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	6,9±0,92 ^{Aa}	6,7±0,71 ^{Aa}	6,5±0,64 ^{Aa}	6,4±0,80 ^{Aa}	6,3±0,83 ^{Aa}	6,5±0,66 ^{Aa}
Mastite	7,2±0,86 ^{Aa}	7,0±0,67 ^{Aa}	6,8±0,58 ^{Aa}	7,1±0,77 ^{Aa}	6,9±0,71 ^{Aa}	7,0±0,92 ^{Aa}
Onfaloflebite	6,6±0,76 ^{Aa}	6,8±0,78 ^{Aa}	6,4±0,87 ^{Aa}	6,0±0,79 ^{Aa}	6,6±0,82 ^{Aa}	6,4±0,74 ^{Aa}

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

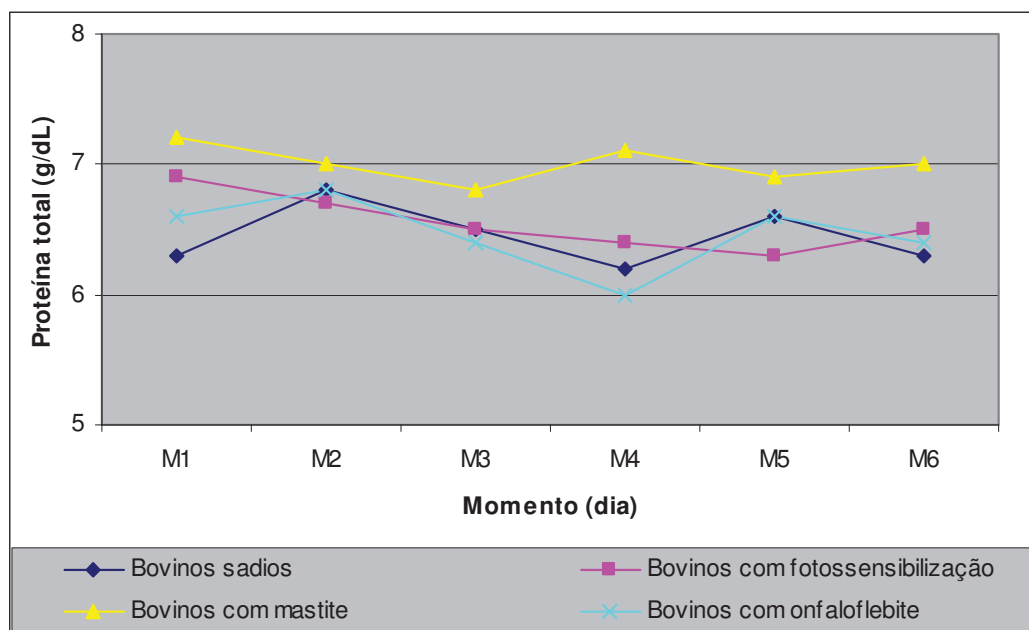


Figura 5. Médias das concentrações séricas de **proteína total** (g/dL) de bovinos sadios e de bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 5. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **ceruloplasmina** (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	14,1±4,11 ^{Aa}	16,6±3,54 ^{Aa}	13,9±3,03 ^{Aa}	15,9±4,10 ^{Aa}	12,8±3,88 ^{Aa}	16,1±4,23 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	49,2±7,13 ^{Ba}	44,5±6,65 ^{Bab}	40,3±7,01 ^{Bb}	40,0±6,76 ^{Bb}	37,2±6,11 ^{Bb}	34,8±5,74 ^{Bb}
Mastite	62,6±9,23 ^{Ca}	60,2±8,56 ^{Ca}	58,9±9,87 ^{Ca}	55,6±7,98 ^{Ca}	50,7±8,09 ^{Cab}	47,4±6,61 ^{Cb}
Onfaloflebite	36,7±5,04 ^{Da}	34,8±6,13 ^{Da}	33,0±5,22 ^{Dab}	29,9±4,99 ^{Db}	30,3±5,41 ^{Db}	27,1±4,23 ^{Db}

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

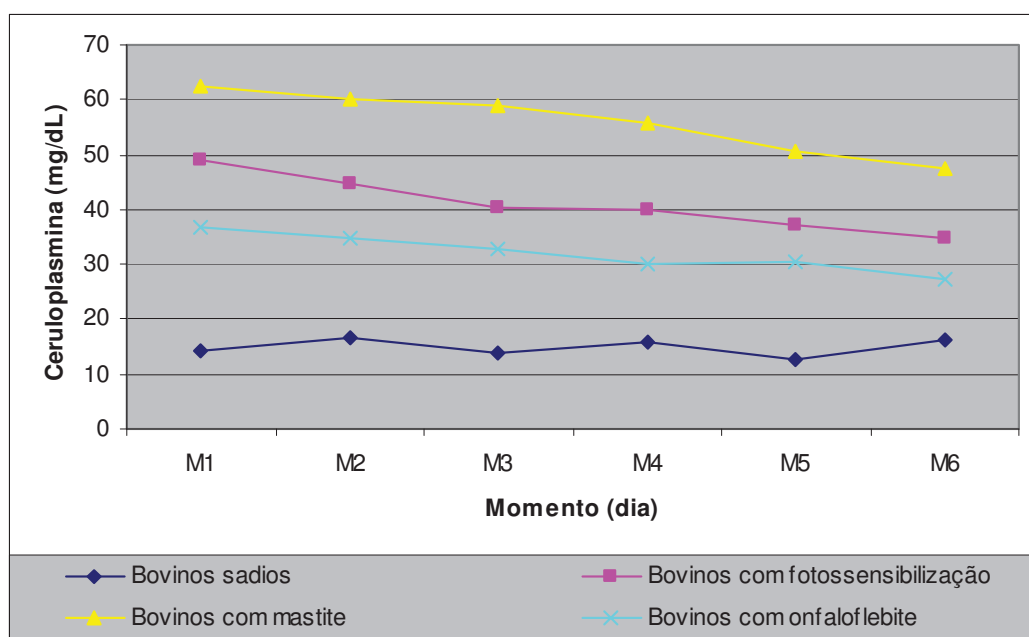


Figura 6. Médias das concentrações séricas de **ceruloplasmina** (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 6. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **transferrina** (mg/dL) de bovinos sadios e de bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	253±22,0 ^{Aa}	268±19,9 ^{Aa}	258±20,3 ^{Aa}	270±24,6 ^{Aa}	264±23,6 ^{Aa}	260±20,66 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	248±29,3 ^{ABa}	246±30,5 ^{ABa}	251±23,7 ^{ABa}	258±26,9 ^{Aa}	260±31,1 ^{Aa}	255±25,8 ^{Aa}
Mastite	226±22,5 ^{Ba}	240±26,7 ^{Ba}	234±19,8 ^{Ba}	240±21,5 ^{Ba}	247±23,2 ^{Aa}	260±30,5 ^{Aa}
Onfaloflebite	252±20,6 ^{Aa}	257±17,9 ^{Aa}	249±21,2 ^{Aa}	256±19,7 ^{Aa}	260±24,4 ^{Aa}	256±18,3 ^{Aa}

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

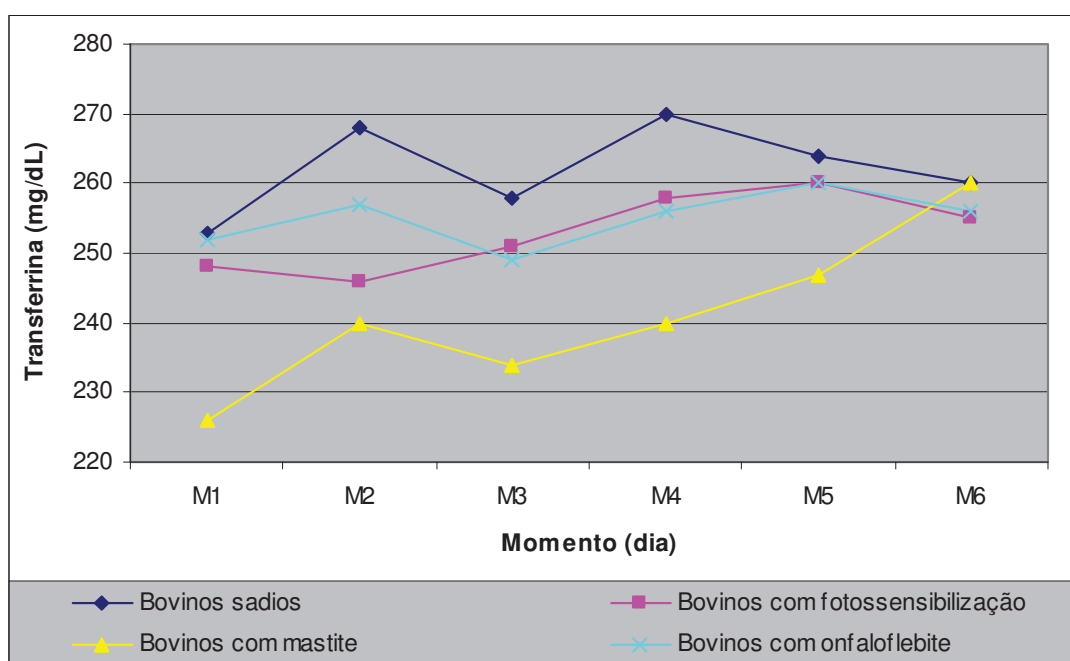


Figura 7. Médias das concentrações séricas de **transferrina** (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 7. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **haptoglobina** (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	35,1±5,11 ^{Aa}	38,1±4,73 ^{Aa}	33,6±3,91 ^{Aa}	37,4±4,02 ^{Aa}	32,0±3,74 ^{Aa}	36,1±4,15 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	123±20,7 ^{Ba}	127±22,34 ^{Ba}	120±25,2 ^{Ba}	114±19,9 ^{Ba}	111±17,3 ^{Ba}	106±10,2 ^{Bb}
Mastite	159±26,2 ^{Ca}	165±23,8 ^{Ca}	170±19,7 ^{Ca}	161±17,4 ^{Ca}	149±16,1 ^{Cb}	138±15,8 ^{Cb}
Onfaloflebite	94±10,5 ^{Da}	90±12,3 ^{Dab}	85±10,7 ^{Dab}	89±9,8 ^{Dab}	82±11,5 ^{Db}	79±9,2 ^{Db}

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

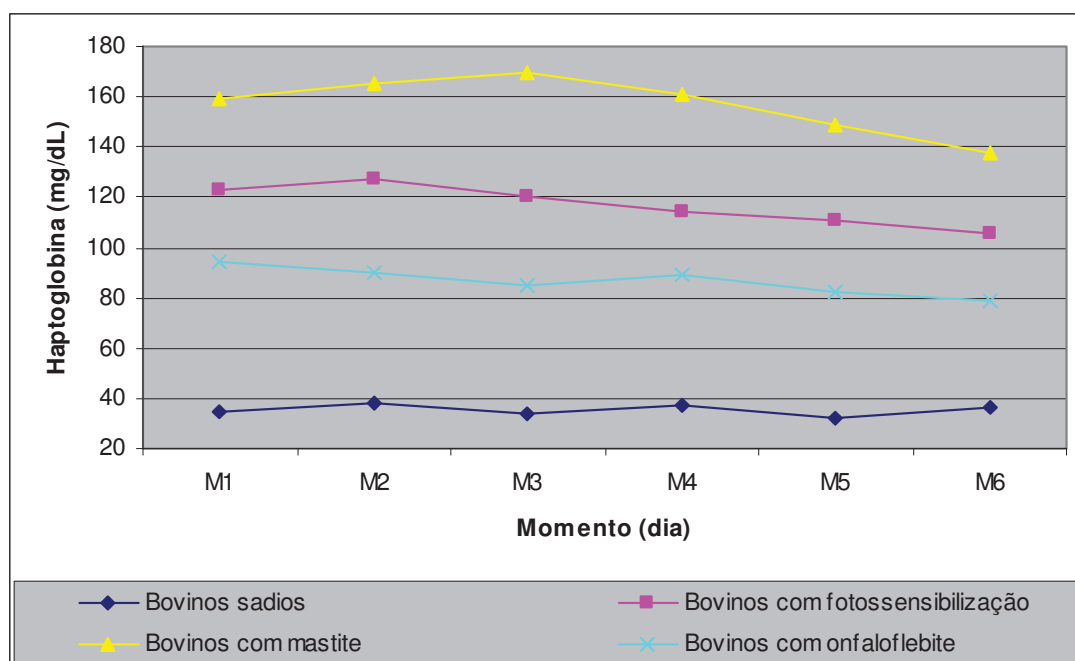


Figura 8. Médias das concentrações séricas de **haptoglobina** (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 8. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de bovinos saudáveis e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	13,9 $\pm$ 2,4 ^{Aa}	16,0 $\pm$ 2,1 ^{Aa}	14,7 $\pm$ 1,7 ^{Aa}	17,1 $\pm$ 1,9 ^{Aa}	15,8 $\pm$ 2,0 ^{Aa}	13,8 $\pm$ 1,8 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	39,1 $\pm$ 4,8 ^{Ba}	40,3 $\pm$ 5,2 ^{Ba}	38,4 $\pm$ 4,9 ^{Ba}	35,2 $\pm$ 5,3 ^{Bab}	37,2 $\pm$ 4,4 ^{Bab}	34,3 $\pm$ 3,8 ^{Bb}
Mastite	44,2 $\pm$ 5,5 ^{Ca}	49,0 $\pm$ 4,7 ^{Cb}	52,8 $\pm$ 6,3 ^{Cb}	47,0 $\pm$ 5,1 ^{Cb}	40,0 $\pm$ 4,8 ^{Ca}	39,2 $\pm$ 5,1 ^{Ca}
Onfaloflebite	15,4 $\pm$ 2,97 ^{Aa}	17,3 $\pm$ 2,84 ^{Aa}	16,2 $\pm$ 2,43 ^{Aa}	14,1 $\pm$ 2,12 ^{Aa}	15,1 $\pm$ 1,95 ^{Aa}	14,8 $\pm$ 2,22 ^{Aa}

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

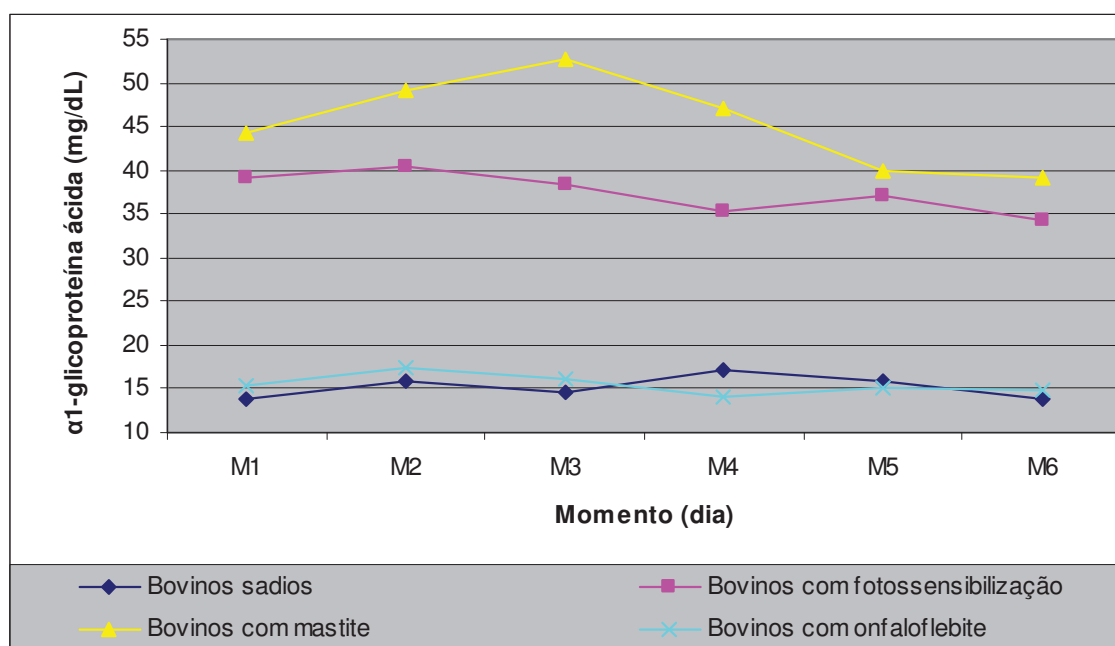


Figura 9. Médias das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de bovinos saudáveis e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Nos bovinos com onfaloflebite não foi verificada diferença nas concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida em relação ao grupo sadio. Da mesma forma, não foram observadas diferenças entre os momentos avaliados (Tabela 8 e Figura 9), corroborando CONNER et al. (1988) e HIRVONEN (2000), que afirmaram que a α_1 -glicoproteína ácida possui resposta moderada à relativamente baixa em resposta à injúria tecidual em bovinos. No entanto, ao mesmo tempo em que os animais com onfaloflebite reafirmam os relatos destes dois autores, os resultados observados nos animais com fotossensibilização e mastite fazem discordar. Nestes últimos, as concentrações de α_1 -glicoproteína ácida mostraram-se marcadamente elevadas durante todo o período experimental, mostrando, portanto, que a α_1 -glicoproteína ácida foi um biomarcador sensível de inflamação nos bovinos acometidos por este tipo de enfermidade.

Nos bovinos acometidos por fotossensibilização observou-se aumento significativo das concentrações plasmáticas de fibrinogênio quando comparado aos animais do grupo sadio, embora em relação aos animais com mastite e onfaloflebite, este aumento foi significativamente menor (Tabela 9 e Figura 10). Durante todo o período experimental, a concentração plasmática de fibrinogênio nos animais com fotossensibilização seguiu tendência ao decréscimo, atingindo teores significativamente menores apenas no último dia de internação (M6). Embora as concentrações plasmáticas de fibrinogênio não tenham excedido o limite de referência largamente utilizado na rotina veterinária, estabelecido por KANEKO et al. (1997), neste estudo todo o grupo de animais doentes apresentou valores mais elevados em relação ao grupo controle, representado pelo grupo de animais sadios.

Os bovinos com mastite apresentaram as maiores concentrações plasmáticas de fibrinogênio, diferindo significativamente do grupo sadio e atingindo um pico no segundo dia de internação (M2), quando foi verificado aumento de 2,7 vezes em relação aos animais sadios. As concentrações decresceram a partir deste momento, atingindo valores significativamente menores no quinto dia de internação (M5) e mantendo estabilidade da concentração plasmática até o último momento (M6) (Tabela

9 e Figura 10). TABRIZI et al. (2008) constataram uma elevação nos níveis de fibrinogênio no plasma de vacas com mastite clínica e subclínica quando comparadas a animais sadios, corroborando os resultados aqui relatados.

As concentrações plasmáticas de fibrinogênio nos bovinos com onfaloflebite também foram superiores às dos animais sadios, com decréscimo significativo dos valores a partir do quarto dia de internação (M4) (Tabela 9 e Figura 10). Estudos acerca desta temática não foram encontrados na literatura compilada.

O quadro apresentado pelos animais do grupo doente – com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite - mostrou a precocidade e persistência da elevação dos níveis plasmáticos do fibrinogênio em relação ao grupo sadio, confirmando sua confiabilidade quanto a detecção de um processo inflamatório em curso porquanto tempo o estímulo inflamatório se mantenha. O fato de os animais doentes só apresentarem redução das concentrações plasmáticas desta proteína após 3 – 6 dias após o início do experimento – levando-se em conta o tempo transcorrido entre o real início do processo de injúria tissular e o primeiro dia de socorro veterinário, ou seja, o primeiro dia de internação – confirma, mais uma vez, o que cita COLE et al. (1997), quanto a persistência na elevação da concentração plasmática desta PFA durante o processo patológico pelo tempo em que ele permaneça ativo e retornando aos níveis fisiológicos mais paulatinamente, em alguns dias ou até semanas, ao contrário de outras PFAs, que retornam aos seus valores basais logo que o estímulo inflamatório cessa.

Tabela 9. Médias e desvios-padrão das concentrações plasmáticas de **fibrinogênio** (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	364±32,8 ^{Aa}	356±36,2 ^{Aa}	377±33,9 ^{Aa}	364±30,5 ^{Aa}	359±32,0 ^{Aa}	380±29,8 ^{Aa}
Grupo doente						
Fotossensibilização	422±43,2 ^{Bab}	405±37,7 ^{Bab}	401±34,6 ^{Bab}	395±31,0 ^{Bab}	388±27,6 ^{Bab}	380±31,3 ^{Bb}
Mastite	964±91,4 ^{Ca}	973±97,6 ^{Ca}	939±90,6 ^{Ca}	922±84,3 ^{Ca}	822±79,5 ^{Cb}	804±76,8 ^{Cb}
Onfaloflebite	501±45,7 ^{Da}	522±50,1 ^{Da}	498±41,9 ^{Dab}	505±49,5 ^{Da}	483±40,1 ^{Dab}	459±40,3 ^{Db}

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

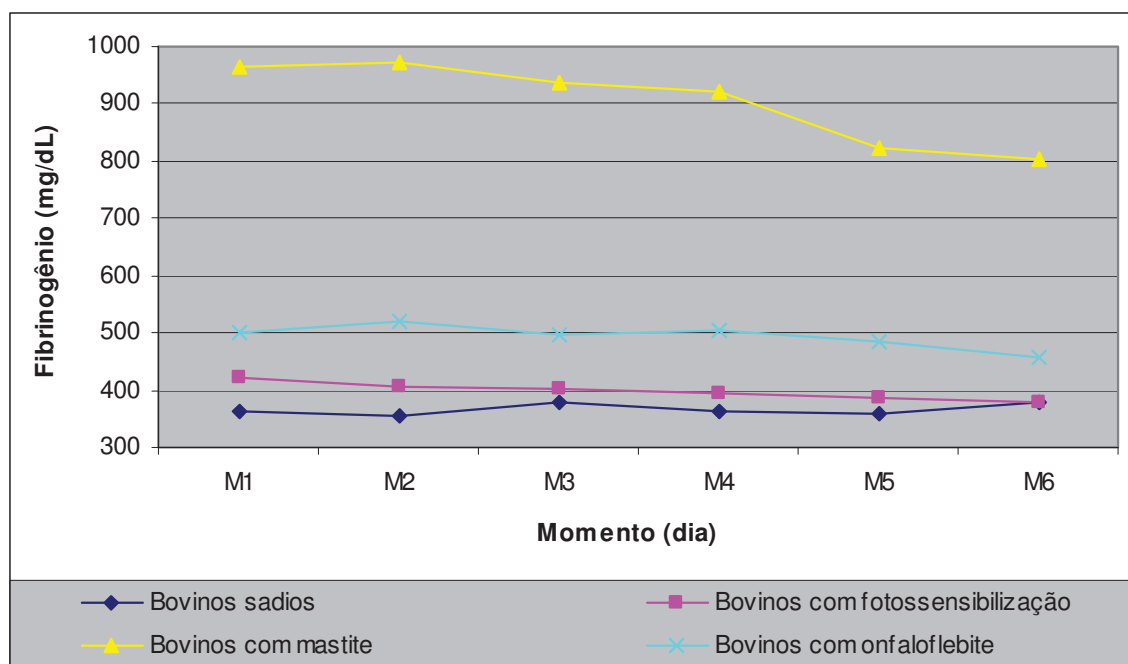


Figura 10. Médias das concentrações plasmáticas de **fibrinogênio** (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

5.2 Ovinos

5.2.1 Leucograma

Nas Tabelas 10, 11 e 12 e Figuras 11, 12 e 13 são apresentadas, respectivamente, as contagens de leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos de ovinos sadios e de ovinos portadores de doença inflamatória recente. Devido à ampla variação nas contagens de monócitos, eosinófilos, neutrófilos bastonetes e basófilos estes valores são apresentados, em forma descritiva, como contagens mínimas e máximas.

Os ovinos com eczema facial apresentaram aumento da contagem de leucócitos em relação aos animais sadios apenas no dia da internação (M1). A partir do dia subsequente (M2) constatou-se valores semelhantes aos do grupo sadio e dentro dos limites de referência estabelecidos por KANEKO et al. (1997) para esta espécie (Tabela 10 e Figura 11). Em concordância, MENDONÇA et al. (2008) também relataram aumento na contagem total de leucócitos em surto de fotossensibilização em ovinos.

Nas ovelhas com mastite constatou-se leucocitose no primeiro dia de internação (M1). A contagem de leucócitos destes animais diminuiu atingindo valores significativamente menores no quarto dia de internação (M4) e mantendo decréscimo até o final do estudo (Tabela 10 e Figura 11).

Nos ovinos com ectima contagioso observou-se resposta leucocitária estatisticamente similar à apresentada pelos ovinos do grupo sadio, sem alteração significativa durante todo o período experimental (Tabela 10 a Figura 11). HAIG et al. (2002) ressaltaram o caráter localizado da resposta inflamatória em animais acometidos por ectima contagioso. É provável que esta seja a razão de os animais com esta enfermidade no presente estudo não apresentarem aumento significativo da contagem total de leucócitos, neutrófilos segmentados ou linfócitos.

Quanto a contagem de neutrófilos segmentados, observou-se resposta semelhante entre ovinos com eczema facial e ovinos sadios, à exceção do segundo e

quinto dias de internação, M2 e M5, respectivamente, nos quais os valores verificados nos ovinos com eczema facial foram superiores aos do grupo sadio (Tabela 11 e Figura 12). Em um surto de eczema facial em ovinos, MEDONÇA et al. (2008) relataram aumento na contagem de neutrófilos segmentados. Entretanto, os autores só tiveram a oportunidade de realizar uma única colheita de amostra sanguínea e atribuíram o aumento na contagem destas células à presença de infecção bacteriana secundária por lesões de fotodermatite, o que não era o caso dos animais acompanhados no presente estudo.

Os ovinos com mastite apresentaram contagem de neutrófilos segmentados superior a dos animais sadios em todos os momentos. As contagens foram superiores às do grupo sadio, em 178%; 205%; 154%; 108%; 119% e 71% no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2), (M3), (M4), (M5) e (M6), respectivamente (Tabela 11 e Figura 12). Estes resultados ilustram o aumento na produção e liberação destas células de defesa em resposta ao estímulo inflamatório em curso nestes animais. Assim como descreveram WEISS & WARDROP (2010), os neutrófilos são a primeira linha de defesa do organismo contra patógenos invasores, sendo esperado um intenso recrutamento inicial destas células para o sítio de inflamação com subsequente elevação de neutrófilos circulantes. Ainda, THEODOROU et al. (2010) estudando mastite clínica em ovelhas leiteiras concluíram que durante a fase aguda ocorre um aumento de 18 a 38 vezes na expressão de alguns genes presentes da cascata de inflamação, os quais seriam responsáveis pela rapidez com estas células migram ao sítio de inflamação e, subsequentemente, aumentam o número de neutrófilos circulantes.

Nos ovinos com ectima contagioso a contagem de neutrófilos segmentados não revelou diferença significativa em relação ao grupo sadio ou entre momentos avaliados (Tabela 11 e Figura 12). Da mesma forma, não foi observada variação significativa quanto a contagem de linfócitos entre nenhum dos grupos estudados ou entre momentos experimentais (Tabela 12 e Figura 13).

O número de neutrófilos bastonetes nas amostras sanguíneas de ovinos doentes variou de 96 a 372/ μ L, sendo nulo em vários momentos. Não foram encontrados basófilos nos esfregaços sanguíneos de ovinos sadios. Nos animais doentes o número de basófilos variou de 62 a 222/ μ L, estando ausente na maioria dos momentos. O número de eosinófilos nas amostras de sangue dos ovinos doentes variou de 77 a 675 células/ μ L e, à semelhança do constatado para basófilos, foi nulo em vários momentos. O número de monócitos dos ovinos sadios foi nulo na maioria dos animais. Apenas um animal apresentou este tipo celular, com 84 monócitos/ μ L. Nos ovinos doentes o número de monócitos variou de 56 a 1.055/ μ L, mostrando-se ausente em vários momentos.

Tabela 10. Médias e desvios-padrão das contagens de **leucócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	6,1 $\pm$ 1,41 ^{Aa}	5,8 $\pm$ 1,65 ^{Aa}	6,5 $\pm$ 1,39 ^{Aa}	6,1 $\pm$ 1,23 ^{Aa}	7,0 $\pm$ 1,92 ^{Aa}	6,4 $\pm$ 1,80 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	8,1 $\pm$ 2,02 ^{Ba}	7,6 $\pm$ 2,30 ^{Aa}	7,1 $\pm$ 1,98 ^{Aa}	6,9 $\pm$ 2,05 ^{Aa}	7,4 $\pm$ 1,79 ^{Aa}	7,0 $\pm$ 2,13 ^{Aa}
Mastite	18,1 $\pm$ 5,8 ^{Ca}	16,4 $\pm$ 4,7 ^{Ca}	17,0 $\pm$ 5,0 ^{Ca}	13,6 $\pm$ 3,0 ^{Cb}	11,5 $\pm$ 3,4 ^{Cb}	9,1 $\pm$ 2,9 ^{Cc}
Ectima contagioso	6,3 $\pm$ 2,1 ^{Aa}	6,2 $\pm$ 2,6 ^{Aa}	6,8 $\pm$ 2,3 ^{Aa}	6,4 $\pm$ 2,4 ^{Aa}	7,0 $\pm$ 1,9 ^{Aa}	7,3 $\pm$ 2,1 ^{Aa}

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

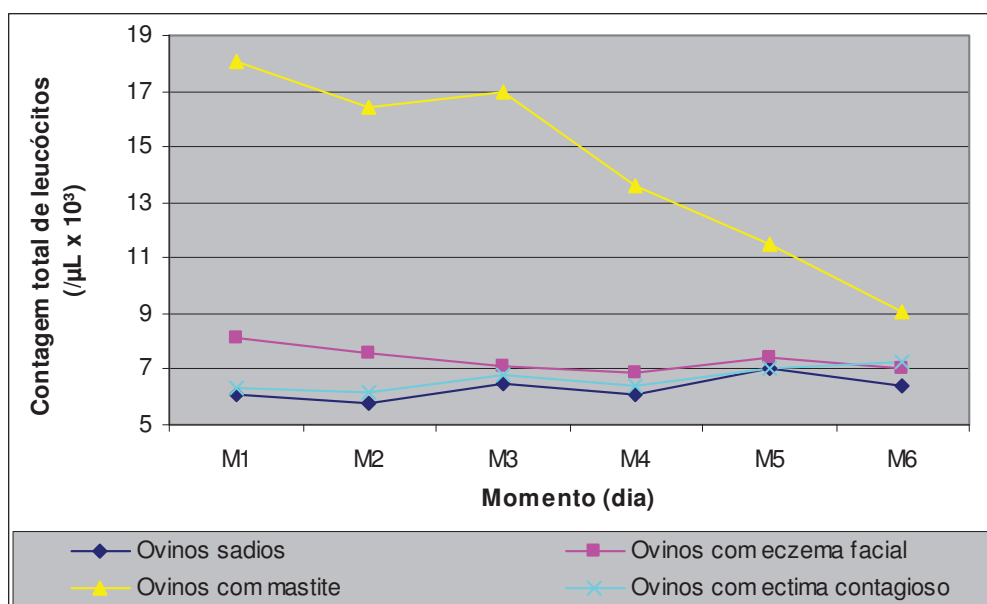


Figura 11. Médias das contagens de **leucócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 11. Médias e desvios-padrão da contagem de **neutrófilos segmentados** ($\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	2,3 $\pm$ 0,73 ^{Aa}	2,0 $\pm$ 0,64 ^{Aa}	2,2 $\pm$ 0,87 ^{Aa}	2,4 $\pm$ 0,90 ^{Aa}	2,1 $\pm$ 0,59 ^{Aa}	2,4 $\pm$ 0,88 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	2,8 $\pm$ 0,76 ^{Aa}	3,2 $\pm$ 0,93 ^{Ba}	3,0 $\pm$ 0,87 ^{Aa}	2,7 $\pm$ 0,67 ^{Aa}	3,0 $\pm$ 0,92 ^{Ba}	2,8 $\pm$ 0,84 ^{Aa}
Mastite	6,4 $\pm$ 2,16 ^{Ba}	6,1 $\pm$ 1,76 ^{Ba}	5,6 $\pm$ 1,59 ^{Ba}	5,0 $\pm$ 1,12 ^{Ba}	4,6 $\pm$ 1,48 ^{Ba}	4,1 $\pm$ 1,75 ^{Ba}
Ectima contagioso	2,2 $\pm$ 1,02 ^{Aa}	1,9 $\pm$ 0,95 ^{Aa}	2,5 $\pm$ 0,76 ^{Aa}	2,0 $\pm$ 1,10 ^{Aa}	2,6 $\pm$ 0,95 ^{Aa}	2,1 $\pm$ 1,05 ^{Aa}

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

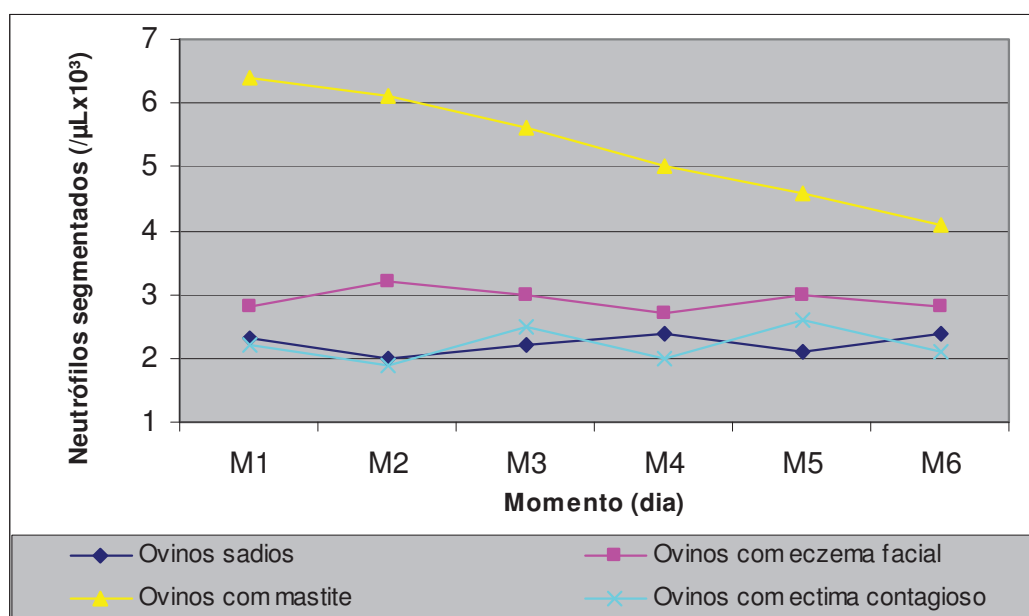


Figura 12. Médias das contagens de **neutrófilos segmentados** ($\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e de ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 12. Médias e desvios-padrão das contagens de **linfócitos** ($\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	4,7 $\pm$ 1,22 ^{Aa}	4,1 $\pm$ 1,52 ^{Aa}	4,9 $\pm$ 1,16 ^{Aa}	4,3 $\pm$ 0,97 ^{Aa}	4,7 $\pm$ 1,32 ^{Aa}	4,4 $\pm$ 0,88 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	4,3 $\pm$ 1,32 ^{Aa}	4,7 $\pm$ 0,94 ^{Aa}	5,5 $\pm$ 0,98 ^{Aa}	4,9 $\pm$ 1,15 ^{Aa}	5,7 $\pm$ 1,29 ^{Aa}	5,1 $\pm$ 0,89 ^{Aa}
Mastite	3,7 $\pm$ 0,76 ^{Aa}	4,5 $\pm$ 0,87 ^{Aa}	4,2 $\pm$ 0,74 ^{Aa}	3,8 $\pm$ 0,64 ^{Aa}	4,7 $\pm$ 0,90 ^{Aa}	5,0 $\pm$ 1,27 ^{Aa}
Ectima contagioso	3,4 $\pm$ 0,66 ^{Aa}	3,7 $\pm$ 0,82 ^{Aa}	3,5 $\pm$ 0,91 ^{Aa}	3,6 $\pm$ 0,87 ^{Aa}	4,0 $\pm$ 0,56 ^{Aa}	4,6 $\pm$ 0,60 ^{Aa}

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

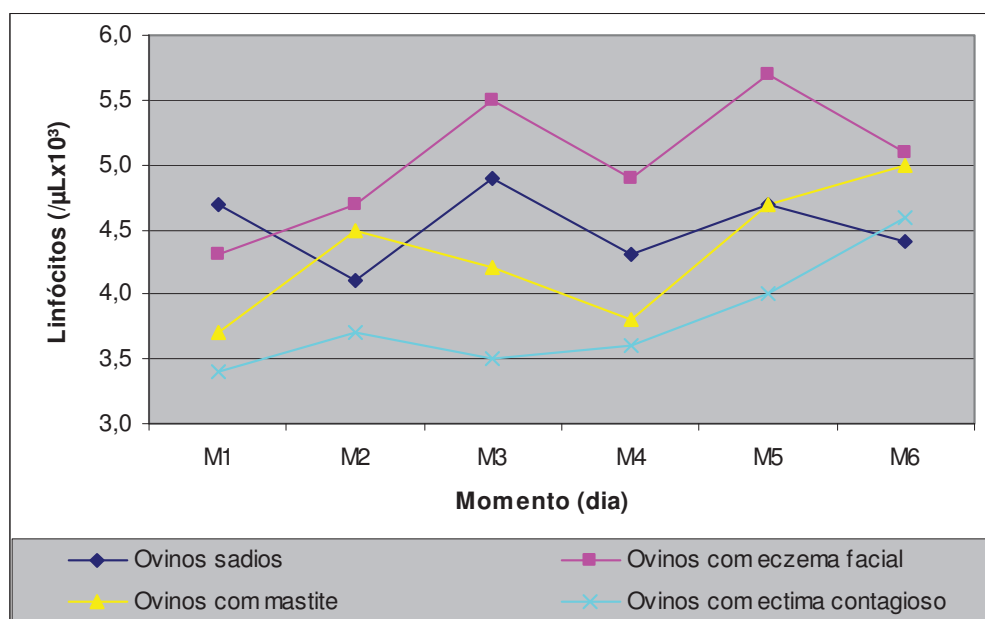


Figura 13. Médias das contagens de **linfócitos** ($\mu\text{L} \times 10^3$) de ovinos sadios e de ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

5.2.2 Proteinograma sérico

Na Tabela 13 e Figura 14 são apresentadas as concentrações séricas de proteína total de ovinos sadios e de ovinos portadores de doença clínica aguda. Não foi constatada nenhuma diferença significativa entre os grupos estudados ou entre momentos experimentais. Em concordância BRUM et al. (2007) estudando ovinos acometidos naturalmente por eczema facial não observaram nenhuma alteração quanto a concentração sérica de proteína total.

Nas Tabelas 14 a 18 e Figuras 15 a 19 são observadas as concentrações séricas de cinco proteínas de ovinos sadios e de ovinos doentes, que foram submetidas à análise estatística devido à sua importância diagnóstica, ou seja, ceruloplasmina, transferrina, haptoglobina, α_1 -glicoproteína ácida e fibrinogênio. É válido salientar que PFAs não foram, até o momento, tão estudadas em outros ruminantes quanto é na espécie bovina (ECKERSALL, 2006). Um estudo recente com ovinos demonstrou ainda que embora um patógeno provoque uma reação crônica, as PFAs são também estimuladas nessas condições, nesta espécie (ECKERSALL et al. 2007).

Nos ovinos acometidos por eczema facial verificou-se aumento de 3,1 vezes nas concentrações séricas de ceruloplasmina em relação aos ovinos do grupo sadio. As concentrações atingiram valores significativamente menores no terceiro dia de internação (M3), decrescendo até o último dia de estudo (M6) (Tabela 14 e Figura 15). A literatura compilada não revelou estudos sobre o assunto.

Os ovinos com mastite apresentaram as maiores concentrações séricas de ceruloplasmina, atingindo valores significativamente menores no terceiro dia de internação (M3) e decrescendo até o final do experimento (Tabela 14 e Figura 15). O aumento da concentração desta proteína reafirma a ação antiinflamatória e biocatalisadora já citada na literatura (CHASSAGNE et al. 1998; PATEL et al. 2002). COSTA et al. (2010), constataram um aumento de 6,0 vezes nas concentrações de haptoglobina em ovelhas com mastite clínica induzida, corroborando o aumento de 6,2 vezes aqui observado. Ainda em concordância quanto à atuação de patógenos

bacterianos como indutores de resposta de fase aguda nesta espécie, ULUTAS & OZPINAR (2006) relataram aumento nas concentrações de ceruloplasmina em ovinos com pasteurelose experimentalmente induzida.

Os ovinos com ectima contagioso apresentaram concentrações séricas de ceruloplasmina significativamente mais elevadas que os animais sadios, embora a resposta tenha sido mais discreta que a observada nos outros animais doentes. Houve decréscimo ao longo do período de estudo, sendo constatados valores significativamente menores a partir do terceiro dia de internação (M3). No último momento (M6), as concentrações séricas assemelharam-se às dos animais sadios (Tabela 14 e Figura 15). Não foi encontrado na literatura estudos que discutissem o assunto, entretanto é possível que a resposta imune local, predominante em casos de ectima contagioso, não produza estímulo suficiente para uma marcante elevação na concentração de PFAs, como se observa nos resultados de todas as PFAs avaliadas nos animais acometidos por esta enfermidade no estudo em tela.

Embora a utilização da ceruloplasmina como marcador inflamatório seja menos comum que a de outras PFAs, como a haptoglobina (MURATA et al. 2004), os resultados obtidos neste experimento, reforçam a importância deste biomarcador em doenças inflamatórias/infecciosas também na espécie ovina. Em concordância, PFEFFER et al. (1993), ao estudarem a resposta de fase aguda em ovinos acometidos por pneumonia constataram que a ceruloplasmina, dentre as três PFAs avaliadas, ceruloplasmina, fibrinogênio e haptoglobina, mostrou ser o melhor biomarcador da reação inflamatória da pneumonia nesta espécie.

Quanto às concentrações séricas de transferrina não foi verificada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre grupos ou entre momentos avaliados, embora biologicamente tenha sido observada diminuição inicial desta PFA em todos os grupos de caprinos doentes em relação aos sadios (Tabela 15 e Figura 16). A transferrina é citada na literatura como uma proteína de fase aguda negativa, ou seja, que apresenta diminuição na sua concentração sérica durante a resposta de fase aguda (JAIN, 1993; SANDHOLM & KORHONEN, 1995; THOMAS, 2010; COSTA et al.

2010). GRUYS et al. (2005) citaram que a diminuição de PFAs negativa durante a resposta de fase aguda, pode ser decorrente de um aumento temporário na disponibilidade de hormônios livres que se mantém ligados a estas proteínas.

Tabela 13. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **proteína total** (g/dL) de ovinos saudáveis e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	6,6±0,59 ^{Aa}	6,4±0,70 ^{Aa}	6,2±0,53 ^{Aa}	6,5±0,71 ^{Aa}	6,3±0,80 ^{Aa}	6,3±0,69 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	6,7±0,77 ^{Aa}	6,6±0,67 ^{Aa}	6,7±0,60 ^{Aa}	6,4±0,71 ^{Aa}	6,3±0,68 ^{Aa}	6,1±0,60 ^{Aa}
Mastite	7,3±0,79 ^{Aa}	7,1±0,70 ^{Aa}	7,3±0,62 ^{Aa}	7,0±0,58 ^{Aa}	6,8±0,65 ^{Aa}	7,0±0,88 ^{Aa}
Ectima contagioso	6,9±0,67 ^{Aa}	7,0±0,73 ^{Aa}	6,8±0,71 ^{Aa}	7,1±0,66 ^{Aa}	7,2±0,71 ^{Aa}	6,8±0,63 ^{Aa}

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

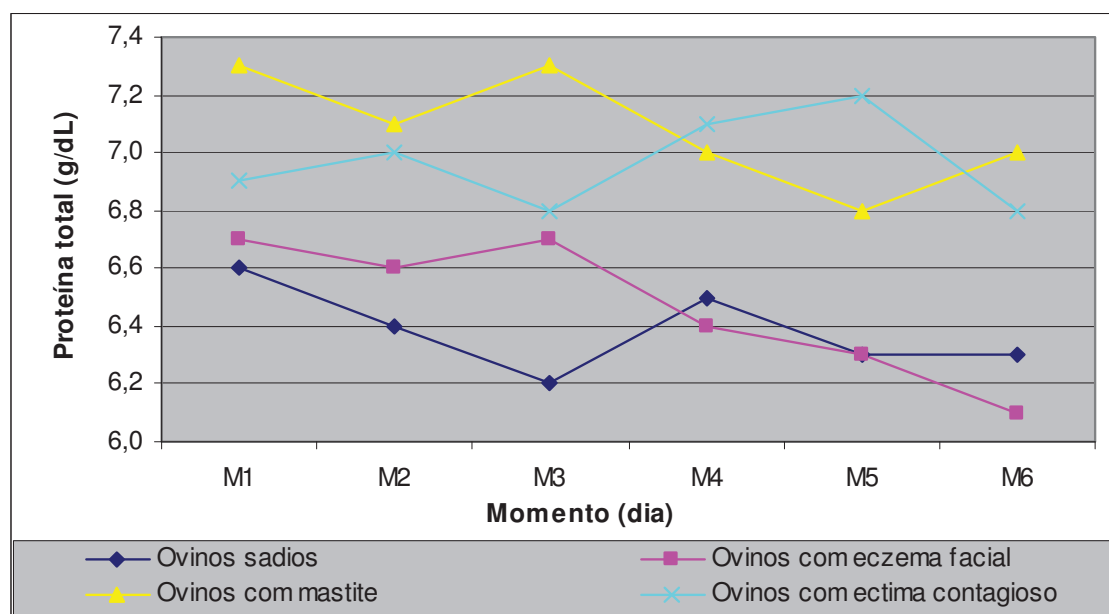


Figura 14. Médias das concentrações séricas de **proteína total** (g/dL) de ovinos saudáveis e de ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 14. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **ceruloplasmina** (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	12,4±3,32 ^{Aa}	10,8±2,92 ^{Aa}	13,0±2,87 ^{Aa}	11,7±3,06 ^{Aa}	14,6±3,21 ^{Aa}	16,1±2,21 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	38,3±5,32 ^{Ba}	40,1±7,01 ^{Ba}	31,6±5,12 ^{Bb}	29,8±3,98 ^{Bb}	28,2±4,23 ^{Bb}	25,6±3,66 ^{Bc}
Mastite	77,1±9,1 ^{Ca}	65,3±7,21 ^{Cab}	60,3±7,03 ^{Cb}	53,4±5,22 ^{Cb}	46,5±4,66 ^{Cc}	40,8±4,06 ^{Cd}
Ectima contagioso	26,2±3,87 ^{Da}	23,9±3,44 ^{Dab}	22,1±2,98 ^{Db}	23,5±2,59 ^{Db}	18,7±2,22 ^{Dc}	18,1±2,08 ^{Ac}

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

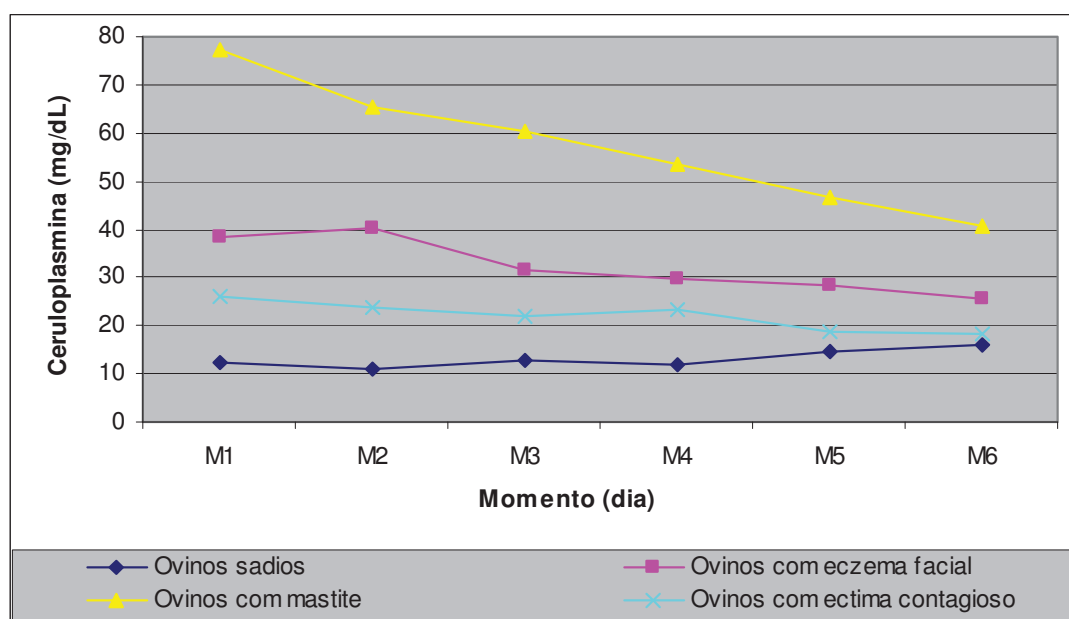


Figura 15. Médias das concentrações séricas de **ceruloplasmina** (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 15. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **transferrina** (mg/dL) de ovinos sadios e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	241±19,4 ^{Aa}	251±23,4 ^{Aa}	238±20,7 ^{Aa}	245±25,2 ^{Aa}	256±21,9 ^{Aa}	249±18,7 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	237±22,1 ^{Aa}	246±21,1 ^{Aa}	242±20,3 ^{Aa}	239±19,8 ^{Aa}	247±22,6 ^{Aa}	250±19,4 ^{Aa}
Mastite	222±27,3 ^{Aa}	231±24,8 ^{Aa}	240±21,0 ^{Aa}	244±18,9 ^{Aa}	251±17,4 ^{Aa}	248±20,1 ^{Aa}
Ectima contagioso	244±19,7 ^{Aa}	238±18,1 ^{Aa}	245±17,0 ^{Aa}	250±17,8 ^{Aa}	246±21,4 ^{Aa}	252±23,9 ^{Aa}

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

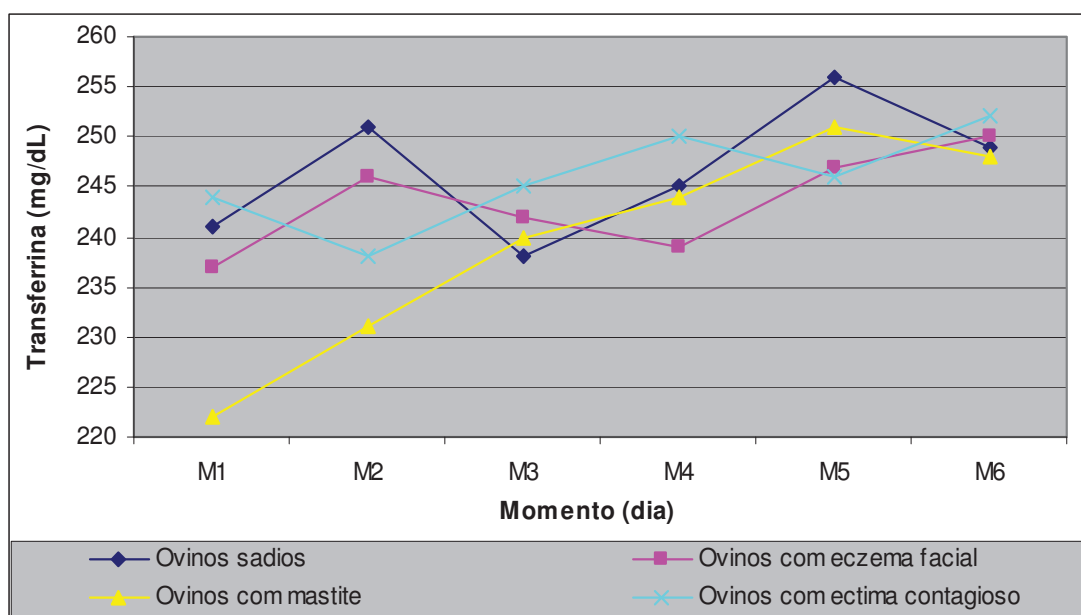


Figura 16. Médias das concentrações séricas de **transferrina** (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

As concentrações séricas de haptoglobina em ovinos acometidos por eczema facial foram superiores às dos ovinos sadios, atingindo um pico no terceiro dia de internação (M3), quando constatou-se aumento de 4,1 vezes em relação ao grupo sadio. A partir daí, os valores decresceram paulatinamente, sem atingir, entretanto, valores significativamente menores que os apresentados no primeiro dia do estudo (Tabela 16 e Figura 17).

Nos ovinos com mastite foram observadas as maiores concentrações séricas de haptoglobina, diferindo significativamente do grupo sadio e atingindo um pico no segundo dia de internação (M2), quando registrou aumento de 5,8 vezes em relação ao grupo sadio (Tabela 16 e Figura 17). Esta elevação, apesar de significativa, difere do que relatam SALONEN et al. (1996) e COSTA et al. (2010), que encontraram aumentos de 50 e 14 vezes em relação aos grupos controle, respectivamente. Esta marcante elevação citada por SALONEN et al. (1996) provavelmente está relacionada ao agente etiológico envolvido, uma vez que *Escherichia coli*, uma bactéria Gram-negativa, induz forte estímulo para a síntese hepática de PFAs (SANDHOLM & KORHONEN, 1995). Quanto à diferença entre os resultados aqui obtidos e a elevação nas concentrações de haptoglobina citadas por COSTA et al. (2010), que realizaram infecção experimental, em casos de ocorrência natural como os utilizados neste trabalho, torna-se mais complicado estabelecer o tempo decorrido entre o início do processo inflamatório e o grau de desafio ao qual a glândula foi submetida, fatores ausentes num delineamento experimental de indução, como o realizado pelo autor supracitado.

A partir do pico de haptoglobina apresentado pelas ovelhas com mastite no M3, os valores decresceram, atingindo concentrações significativamente menores em relação ao M1 apenas no último momento avaliado (M6), embora ainda significativamente elevadas em relação ao grupo sadio. Em consonância com o observado neste estudo, a literatura cita elevações de haptoglobina no soro sanguíneo de animais portadores de mastite clínica e subclínica (ECKERSALL et al. 2001; GRÖNLUND et al. 2005). SPOONER & MILLER (1971) e JARRETT (1972), em estudos qualitativos, não detectaram a presença de haptoglobina em 127 ovinos saudáveis,

observando resposta positiva para a presença desta proteína em 11 ovelhas com mastite, corroborando os resultados aqui observados.

O aumento das concentrações séricas de haptoglobina nos ovinos com ectima contagioso foi discreto, porém significativo em relação aos animais sadios. No segundo dia (M2) foi observado aumento de 3,0 vezes em relação ao grupo sadio, decrescendo daí em diante. No último momento experimental (M6), embora os valores fossem significativamente menores que os constatados inicialmente (M1), ainda permaneceram elevados em relação ao grupo sadio (Tabela 16 e Figura 17). Estudos na espécie bovina com infecção viral experimentalmente induzida (GODSON et al. 1996) ou de ocorrência natural (SPOONER & MILLER, 1971) relataram não ocorrer elevações nas concentrações séricas de haptoglobina em resposta a enfermidades virais. No entanto, assim como já descrito em bovinos acometidos por febre aftosa (HÖFNER et al. 1994), no presente trabalho a haptoglobina mostrou elevação sérica significativa nos animais acometidos por ectima contagioso. É verdade que esta resposta sérica foi mais leve que a observada nos animais acometidos por mastite ou eczema facial. No entanto, em casos de acometimento por ectima contagioso, causado por um pox vírus, o envolvimento é um tanto mais localizado e dificilmente observam-se cursos sistêmicos severos desta enfermidade, a não ser que hajam co-infecções em curso. Em estudo experimental com o vírus respiratório sincicial bovino, HEEGAARD et al. (2000) concluíram que a haptoglobina correlacionou-se positivamente com a severidade da doença, o que também foi observado neste estudo.

De forma geral, os resultados obtidos permitem inferir que a haptoglobina foi um biomarcador inflamatório sensível e confiável em todas as enfermidades avaliadas, reforçando os relatos de SKINNER & ROBERTS (1994), de que esta proteína pode ser utilizada como indicador de infecção bacteriana e inflamação em ovinos. É possível sugerir, ainda, que esta PFA pode ser usada no auxílio ao diagnóstico precoce da eczema facial, mastite estafilocócica e ectima contagioso nesta espécie.

As concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida nos ovinos acometidos por eczema facial apresentaram-se superiores às daquelas dos ovinos sadios, atingindo um

pico no quarto dia de internação (M4). Os valores então, decresceram até o final do estudo, porém ainda mantiveram-se elevados em relação ao grupo sadio (Tabela 17 e Figura 18).

Os animais com mastite apresentaram concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida superiores à dos animais sadios durante todo o período experimental. As concentrações séricas atingiram um pico no segundo dia de internação (M2), quando foi registrado aumento de 3,5 vezes em relação ao grupo sadio. Houve decréscimo a partir daí, atingindo o menor valor no último momento (M6), embora ainda significativamente maior que os valores constatados nos animais sadios (Tabela 17 e Figura 18).

Os achados nos ovinos acometidos por eczema facial ou por mastite corroboram com a literatura, onde a α_1 -glicoproteína ácida é descrita como uma PFA empregada para monitorar doenças inflamatórias em diferentes espécies animais, mantendo-se elevada por longos períodos (ECKERSALL et al. 2001, FAGLIARI et al. 2003). REGASSA et al. (2002), estudando ovelhas com metrite induzida, verificaram teores elevados desta PFA por até duas semanas após a infecção. ECKERSALL et al. (2007) avaliando a produção de α_1 -glicoproteína ácida em ovelhas com linfadenite caseosa experimental observaram uma produção contínua desta PFA durante a transição do processo agudo para o crônico. Enquanto outras PFAs, como haptoglobina e amilóide-A sérica, apresentaram elevação imediata e retornaram a níveis basais em duas semanas após a infecção, as concentrações de α_1 -glicoproteína ácida se elevaram paulatinamente e mantiveram-se significativamente elevadas até a quarta semana pós infecção. Isto levou os autores a sugerirem que esta proteína atue como um biomarcador de condições crônicas em ovinos e que isto pode decorrer de produção extra-hepática de α_1 -glicoproteína ácida. No entanto, esta assertiva não encontra respaldo nos resultados deste trabalho, no qual apesar de manter-se elevada até o final do estudo a α_1 -glicoproteína ácida mostrou tendência a declinar ao longo do processo, caracterizando particularmente a fase aguda da enfermidade.

Nos ovinos com ectima contagioso não foi detectada diferença em relação ao grupo sadio quanto às concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (Tabela 17 e Figura 18). A literatura compilada não revelou estudos acerca da temática.

Tabela 16. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **haptoglobina** (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	27,0±2,21 ^{Aa}	30,2±2,89 ^{Aa}	28,2±2,33 ^{Aa}	31,2±2,17 ^{Aa}	28,6±2,33 ^{Aa}	26,8±2,71 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	102±18,4 ^{Ba}	113±20,12 ^{Ba}	115±19,2 ^{Ba}	101±17,8 ^{Ba}	96±15,1 ^{Ba}	92±12,9 ^{Ba}
Mastite	167±22,7 ^{Ca}	174±25,1 ^{Ca}	163±20,3 ^{Ca}	166±24,3 ^{Ca}	153±20,8 ^{Cab}	142±17,5 ^{Cb}
Ectima contagioso	86±9,3 ^{Da}	90±11,7 ^{Da}	82±9,9 ^{Da}	78±10,2 ^{Dab}	76±8,9 ^{Dab}	72±8,4 ^{Db}

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

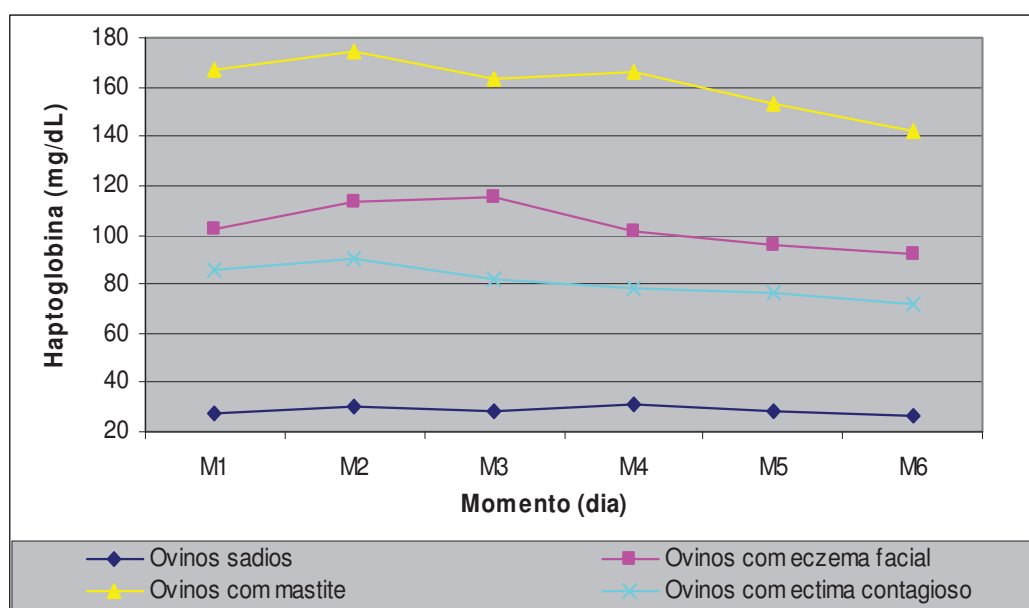


Figura 17. Médias das concentrações séricas de **haptoglobina** (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 17. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de ovinos saudáveis e de ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	8,7±1,2 ^{Aa}	10,1±1,8 ^{Aa}	9,6±0,95 ^{Aa}	8,3±1,2 ^{Aa}	10,0±1,4 ^{Aa}	9,2±0,93 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	19,8±3,1 ^{Ba}	22,1±4,0 ^{Ba}	19,0±3,8 ^{Ba}	23,1±4,4 ^{Ba}	18,3±3,8 ^{Bab}	15,2±3,1 ^{Bb}
Mastite	33,4±5,2 ^{Ca}	36,1±6,1 ^{Ca}	35,3±5,4 ^{Ca}	28,6±5,5 ^{Cb}	26,3±4,3 ^{Cb}	21,7±4,2 ^{Cc}
Ectima contagioso	11,7±2,8 ^{Aa}	12,5±2,6 ^{Aa}	12,2±2,1 ^{Aa}	10,3±1,8 ^{Aa}	10,0±1,4 ^{Aa}	9,8±1,1 ^{Aa}

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

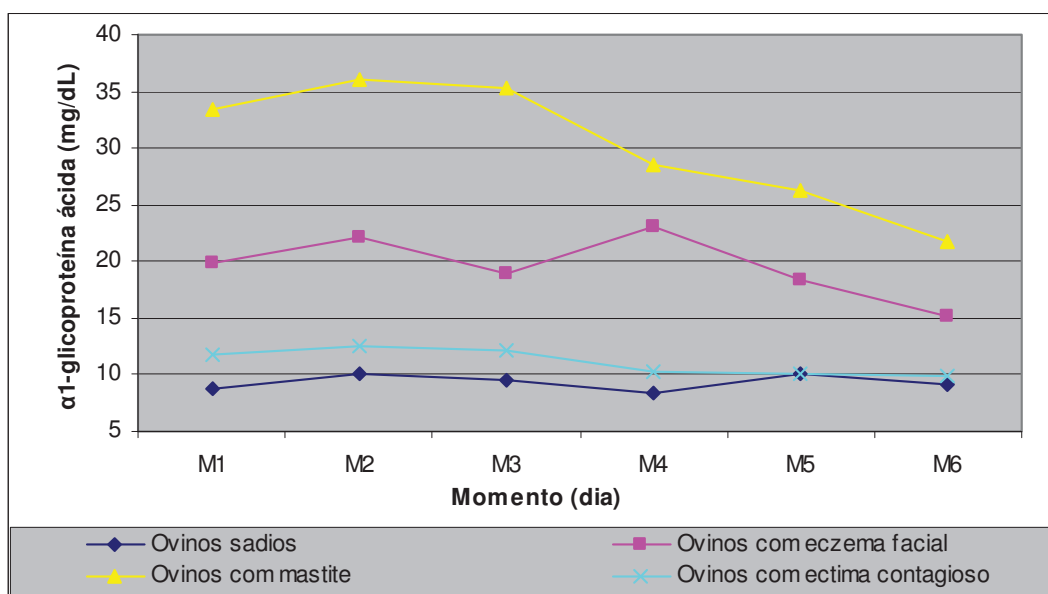


Figura 18. Médias das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de ovinos saudáveis e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Assim como a albumina sérica, a mais importante proteína droga-ligante do organismo, a α_1 -glicoproteína ácida se liga e transporta substâncias de origem endógena e exógena. Esta função contribui para a manutenção da ligação e transporte de drogas, mantendo este processo inalterado durante respostas de fase aguda, nas quais a albumina sérica, uma proteína de fase aguda negativa, decresce em concentração (FOURNIER et al. 2000). Portanto, esta pode ser uma das razões pela qual as concentrações séricas circulantes de α_1 -glicoproteína ácida não apresentaram diferença estatística entre os ovinos acometidos por ectima contagioso e os animais do grupo sadio.

As concentrações plasmáticas de fibrinogênio em ovinos acometidos por eczema facial mostraram-se elevadas em relação aos animais sadios. Foi verificado um pico no segundo dia de internação (M2), decrescendo posteriormente até o final do estudo, embora a média ainda se apresentasse significativamente mais elevada que o grupo sadio (Tabela 18 e Figura 19). Esses valores corroboram os achados de MENDONÇA et al. (2008), que também detectaram aumento na concentração plasmática de fibrinogênio em um surto de eczema facial em ovinos.

Os ovinos com mastite apresentaram as maiores concentrações plasmáticas de fibrinogênio. Um pico foi constatado no segundo dia de internação (M2), quando se observou aumento de 2,1 vezes em relação ao grupo sadio. Houve decréscimo a partir desse momento, atingindo valores significativamente menores no penúltimo dia de estudo (M5). Embora a menor média sérica tenha sido verificada no último momento experimental (M6), os valores mantiveram-se significativamente maiores que no grupo sadio (Tabela 18 e Figura 19). COSTA et al. (2010) relataram um pico de fibrinogênio plasmático às 132 horas pós-infecção experimental intramamária em ovinos com *Staphylococcus aureus*. Este momento corresponderia ao M5-M6 neste estudo, no qual, contrariamente, teve início o decréscimo significativo nos níveis desta proteína. No entanto, há de se ter em conta o controle que é possível quanto a observação do início exato das alterações, tanto clínicas quanto laboratoriais, em casos experimentais e a dificuldade de se controlar estas variáveis quando trata-se de doenças de ocorrência

natural, como é o caso do presente trabalho. Portanto, acredita-se, que os animais acompanhados neste estudo, embora indubitavelmente apresentassem quadro clínico agudo de mastite estafilocócica, provavelmente já estariam enfermos há um pouco mais de tempo ao serem trazidos para atendimento no hospital veterinário. Entretanto, este trabalho concorda com SIMÃO et al. (2007) e COSTA et al. (2010) quanto ao fato de o fibrinogênio ter se mostrado um confiável marcador inflamatório deste tipo de enfermidade aguda, como mostra a Tabela 18 e Figura 19, na qual é possível observar o aumento significativo de fibrinogênio plasmático em relação aos animais sadios em todos os momentos avaliados. Os dois trabalhos de pesquisa estão de acordo ainda quanto ao fato de o fibrinogênio ter apresentado relação positiva com a haptoglobina e ceruloplasmina.

Nos ovinos com ectima contagioso, as concentrações plasmáticas de fibrinogênio foram superiores às dos animais sadios, apresentando diminuição significativa no quarto dia de internação (M4) e decrescendo até o final do experimento (Tabela 18 e Figura 19). Não foram encontrados na literatura consultada trabalhos acerca desta temática.

Tabela 18. Médias e desvios-padrão das concentrações plasmáticas de **fibrinogênio** (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	442±38,7 ^{Aa}	439±40,1 ^{Aa}	455±33,7 ^{Aa}	471±39,9 ^{Aa}	463±41,2 ^{Aa}	456±37,5 ^{Aa}
Grupo doente						
Eczema facial	509±54,8 ^{Bab}	542±60,1 ^{Ba}	511±51,7 ^{Bab}	503±56,2 ^{Bab}	490±45,8 ^{Bab}	479±50,2 ^{Bb}
Mastite	912±90,3 ^{Cab}	930±94,1 ^{Ca}	919±87,3 ^{Cab}	865±81,7 ^{Cab}	821±75,6 ^{Cb}	757±70,5 ^{Cb}
Ectima contagioso	622±66,8 ^{Da}	611±62,9 ^{Da}	587±54,5 ^{Dab}	543±50,8 ^{Db}	522±56,4 ^{Db}	493±50,2 ^{Db}

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

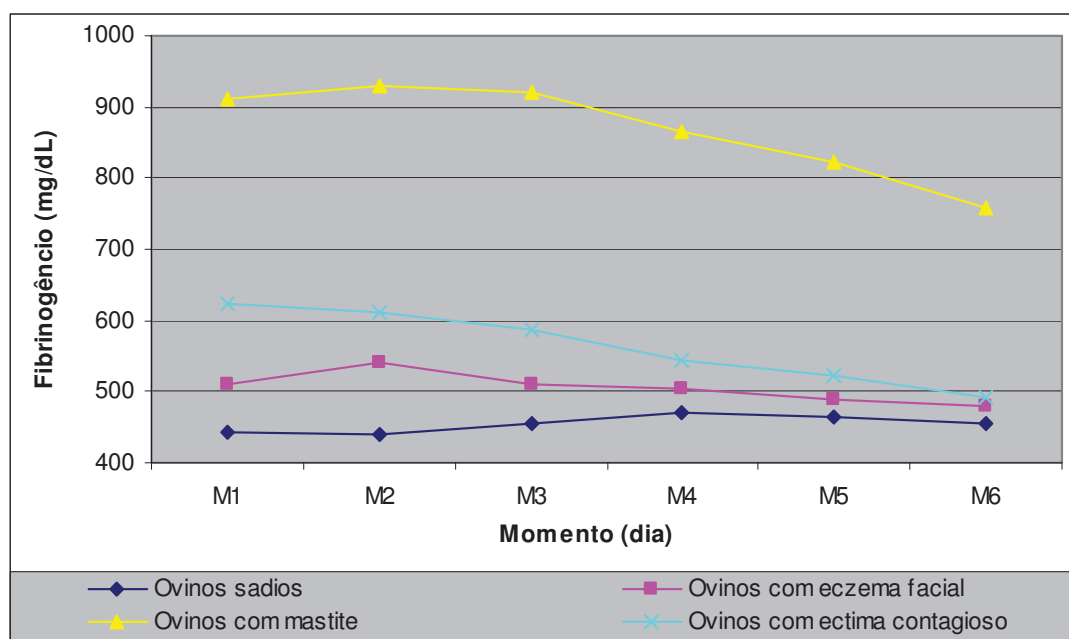


Figura 19. Médias das concentrações plasmáticas de **fibrinogênio** (mg/dL) de ovinos sadios e ovinos com eczema facial, mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

5.3 Caprinos

5.3.1 Leucograma

As Tabelas 19, 20 e 21 e Figuras 20, 21 e 22 apresentam, respectivamente, as contagens de leucócitos, neutrófilos segmentados e linfócitos de caprinos sadios e caprinos portadores de doença aguda recente. Em razão da ampla variação nas contagens de monócitos, eosinófilos, neutrófilos bastonetes e basófilos estes valores são apresentados, em forma descritiva, como contagens mínimas e máximas.

A contagem total de leucócitos nos animais acometidos por artrite secundária a infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina (CAE), mostrou oscilações durante o período experimental, alternando aumentos significativos e similaridade estatística em relação aos animais sadios (Tabela 19 e Figura 20). No entanto, em nenhum dos momentos, os valores excederam o limite de referência estabelecido por KANEKO et al. (1997) e vastamente usado na rotina laboratorial veterinária. MILHAU et al. (2005) afirmaram que o curso natural de infecções pelo vírus da CAE caracteriza-se por períodos alternados de expressão viral reduzida com aumento marcante e repentino de monócitos circulantes infectados. A presença destas células infectadas circulantes pode modificar a dinâmica de migração leucocitária no endotélio vascular (GHORPADE et al. 2001), diminuindo a capacidade de adesão leucocitária e, portanto, favorecendo a formação de lesões e aumento da contagem total de leucócitos. Este fato pode ter influenciado os resultados aqui apresentados.

Nos caprinos acometidos por mastite, as contagens totais de leucócitos apresentaram elevação inicial em relação ao grupo sadio, sendo observada diminuição significativa no quinto dia de estudo (M5). Os valores decresceram até o final do experimento (Tabela 19 e Figura 20). Este resultado ilustra o processo inflamatório em curso, entretanto não foi encontrado na literatura estudos que tratassem do assunto.

Nos animais com ectima contagioso não foram verificadas alterações significativas em relação ao grupo sadio ou entre os momentos avaliados (Tabela 19 e Figura 20). HAIG et al. (2002) afirmaram que o ectima contagioso, embora não seja

uma enfermidade fatal, apresenta alta morbidade e animais infectados comumente adquirem infecções secundárias. Os autores ressaltaram o caráter localizado da resposta inflamatória, que se restringe aos queratinócitos epidérmicos, não havendo evidências de resposta sistêmica. É provável que esta seja a razão de os animais acometidos pela doença neste estudo não apresentarem aumento significativo da contagem total de leucócitos, neutrófilos segmentados ou linfócitos, como mostram as Tabelas 19, 20 e 21 e as Figuras 20, 21 e 22, respectivamente. É válido salientar que este grupo de animais não apresentou sinais de infecções intercorrentes.

Quanto à contagem de neutrófilos segmentados, não foi observada diferença entre grupos ou entre momentos estudados, à exceção dos animais acometidos por mastite. Este grupo apresentou contagens mais elevadas que o grupo controle durante todo o período experimental, embora não tenha sido constatada leucocitose em nenhum dos momentos experimentais, segundo valores de referência estabelecidos por KANEKO et al. (1997) (Tabela 20 e Figura 21).

No que tange a contagem de linfócitos, os ovinos acometidos por mastite apresentaram médias elevadas em relação aos sadios até o M4. No dia subsequente (M5) houve diminuição das contagens, que permaneceram estáveis até o final do estudo. Nos demais grupos não foi verificada nenhuma diferença em relação ao grupo sadio ou entre momentos (Tabela 21 e Figura 22).

Em relação aos caprinos sadios, não se constatou a presença de neutrófilos bastonetes em nenhum dos animais. O número de neutrófilos bastonetes nas amostras de sangue de caprinos doentes variou de 150 a 550/ μ L, sendo nulo em vários momentos. Os maiores valores foram verificados em cabras com mastite. Não foram encontrados basófilos nos esfregaços sanguíneos do grupo sadio. No grupo doente o número de basófilos variou de 50 a 300/ μ L, estando ausente na maioria dos momentos. Nos caprinos sadios, a contagem de eosinófilos variou de 125 a 580 células/ μ L e nos doentes de 95 a 1.150 células/ μ L. À semelhança do constatado para basófilos, a contagem foi nula em vários momentos. Quanto ao número de monócitos no grupo sadio, a contagem foi nula na maioria dos animais. Apenas três animais apresentaram

este tipo celular, com 120, 280 e 440 monócitos/ μL , respectivamente. Nos caprinos doentes o número de monócitos variou de 80 a 1.320 células/ μL , estando ausente em vários momentos.

Tabela 19. Médias e desvios-padrão das contagens de **leucócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	5,3 $\pm$ 1,23 ^{Aa}	5,0 $\pm$ 1,42 ^{Aa}	5,6 $\pm$ 1,49 ^{Aa}	5,2 $\pm$ 1,54 ^{Aa}	5,7 $\pm$ 1,34 ^{Aa}	6,1 $\pm$ 1,30 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	7,0 $\pm$ 3,12 ^{Ba}	6,8 $\pm$ 2,83 ^{Aa}	7,2 $\pm$ 2,15 ^{Ba}	6,9 $\pm$ 2,10 ^{Aa}	7,3 $\pm$ 2,50 ^{Ba}	7,1 $\pm$ 2,23 ^{Aa}
Mastite	12,7 $\pm$ 4,12 ^{Ca}	11,2 $\pm$ 5,46 ^{Ba}	13,0 $\pm$ 3,81 ^{Ca}	11,0 $\pm$ 3,4 ^{Bab}	9,7 $\pm$ 3,1 ^{Cb}	8,7 $\pm$ 2,8 ^{Bb}
Ectima contagioso	6,6 $\pm$ 2,5 ^{Aa}	7,0 $\pm$ 2,3 ^{Aa}	6,1 $\pm$ 1,8 ^{Aa}	6,2 $\pm$ 1,7 ^{Aa}	6,9 $\pm$ 1,9 ^{Aa}	7,0 $\pm$ 2,0 ^{Aa}

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

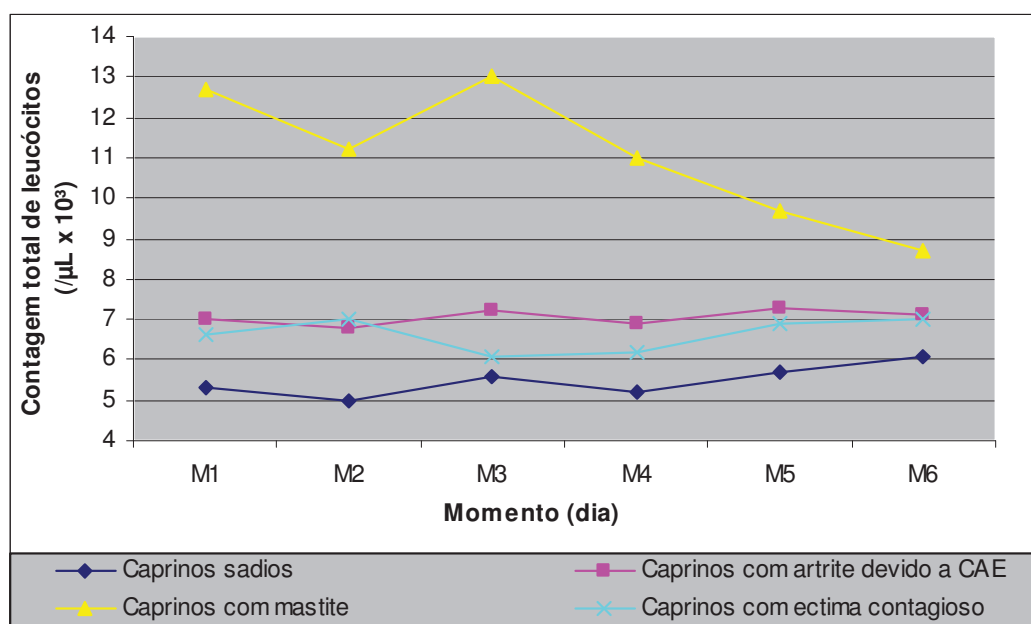


Figura 20. Médias das contagens de **leucócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e de caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 20. Médias e desvios-padrão das contagens de **neutrófilos segmentados** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	2,0 $\pm$ 0,64 ^{Aa}	1,9 $\pm$ 0,58 ^{Aa}	1,7 $\pm$ 0,72 ^{Aa}	2,1 $\pm$ 0,85 ^{Aa}	2,3 $\pm$ 0,64 ^{Aa}	2,2 $\pm$ 0,71 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	2,4 $\pm$ 0,84 ^{Aa}	2,6 $\pm$ 0,76 ^{Aa}	2,8 $\pm$ 0,81 ^{Aa}	2,5 $\pm$ 0,72 ^{Aa}	2,9 $\pm$ 0,83 ^{Aa}	2,8 $\pm$ 0,70 ^{Aa}
Mastite	5,4 $\pm$ 1,87 ^{Ba}	5,1 $\pm$ 1,23 ^{Ba}	5,5 $\pm$ 1,76 ^{Ba}	5,1 $\pm$ 1,80 ^{Ba}	4,8 $\pm$ 1,77 ^{Ba}	4,5 $\pm$ 1,60 ^{Ba}
Ectima contagioso	2,1 $\pm$ 1,11 ^{Aa}	2,4 $\pm$ 0,83 ^{Aa}	2,1 $\pm$ 0,68 ^{Aa}	2,2 $\pm$ 0,89 ^{Aa}	2,4 $\pm$ 0,80 ^{Aa}	2,2 $\pm$ 0,77 ^{Aa}

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

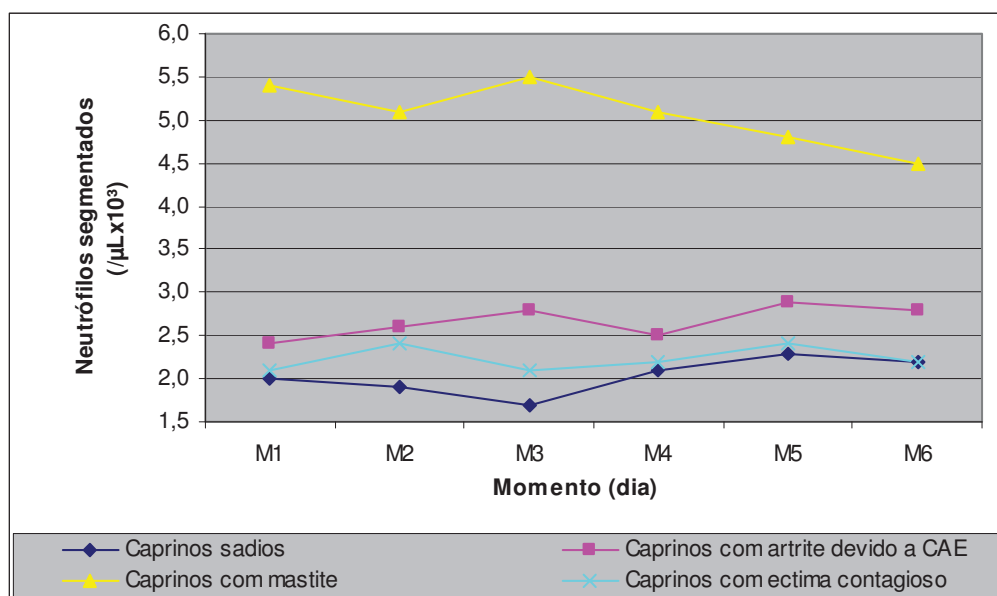


Figura 21. Médias das contagens de **neutrófilos segmentados** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 21. Médias e desvios-padrão da contagem de **linfócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e de caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	3,1 $\pm$ 1,01 ^{Aa}	2,8 $\pm$ 1,11 ^{Aa}	3,2 $\pm$ 1,28 ^{Aa}	2,9 $\pm$ 1,01 ^{Aa}	3,0 $\pm$ 1,33 ^{Aa}	3,1 $\pm$ 1,14 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	3,0 $\pm$ 1,49 ^{Aa}	2,8 $\pm$ 1,32 ^{Aa}	3,0 $\pm$ 1,19 ^{Aa}	2,9 $\pm$ 1,20 ^{Aa}	3,1 $\pm$ 1,07 ^{Aa}	3,0 $\pm$ 1,11 ^{Aa}
Mastite	5,2 $\pm$ 1,12 ^{Ba}	4,8 $\pm$ 1,33 ^{Ba}	5,3 $\pm$ 1,55 ^{Ba}	4,7 $\pm$ 1,29 ^{Ba}	4,0 $\pm$ 1,08 ^{Aa}	3,8 $\pm$ 1,44 ^{Aa}
Ectima contagioso	3,2 $\pm$ 1,53 ^{Aa}	3,4 $\pm$ 1,34 ^{Aa}	3,0 $\pm$ 1,49 ^{Aa}	3,1 $\pm$ 1,66 ^{Aa}	3,3 $\pm$ 1,46 ^{Aa}	2,9 $\pm$ 1,22 ^{Aa}

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

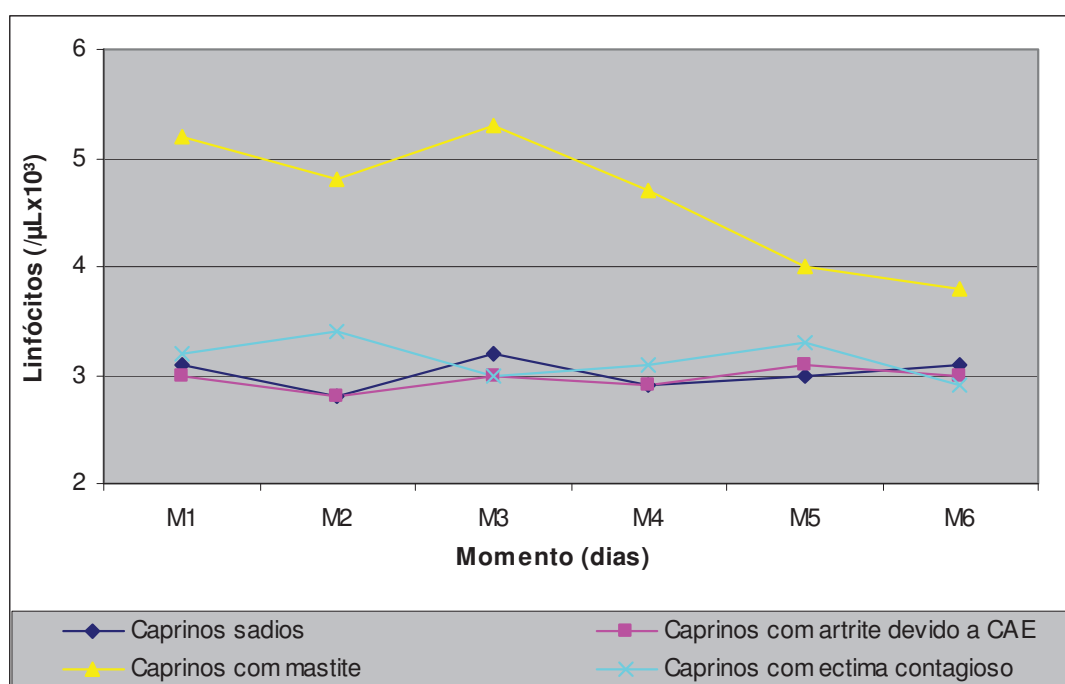


Figura 22. Médias das contagens de **linfócitos** ($/\mu\text{L} \times 10^3$) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

5.3.2 Proteinograma sérico

Na Tabela 22 e Figura 23 são apresentadas as concentrações séricas de proteína total de caprinos sadios e de caprinos doentes. Os animais acometidos por mastite foram os únicos que apresentaram concentrações séricas de proteína total significativamente elevadas em relação ao grupo sadio. Os valores mantiveram-se estáveis até o quinto dia de internação (M5) quando começaram a diminuir. Em concordância com o constatado nos animais acometidos por artrite (secundária a CAE) ou por ectima contagioso, PATELLI et al. (2008) não observaram alterações na concentração sérica de proteína total em caprinos infectados experimentalmente com *Trypanossoma evansi*.

Nas Tabelas 23 a 27 e Figuras 24 a 28 são apresentadas as concentrações séricas de cinco proteínas de caprinos sadios e de caprinos portadores de doença clínica aguda, que foram submetidas à análise estatística devido à sua importância diagnóstica. São elas: ceruloplasmina, transferrina, haptoglobina, α_1 -glicoproteína ácida e fibrinogênio.

Foi verificada elevação na concentração sérica de ceruloplasmina em todos os animais do grupo doente. Nos caprinos com artrite secundária a CAE foi verificado aumento inicial nas concentrações desta proteína de 5,4 vezes em relação aos animais sadios, apresentando um pico no M2 e decrescendo a partir daí. Diminuição significativa, em relação ao início do experimento, só foi observada no quarto dia de estudo (M4) e no último momento se obteve as menores concentrações séricas de ceruloplasmina, embora ainda elevadas em relação ao grupo sadio (Tabela 23 e Figura 24). SHARMILA et al. (2002), avaliando o efeito da infecção do vírus da CAE na expressão de interleucina-6 (IL-6), concluíram que ocorreu aumento na expressão dessa citocina nos animais infectados. A IL-6, assim como outras citocinas pró-inflamatórias quimiotáticas, é responsável pelo aumento da demanda de produção e liberação de PFAs na resposta de fase aguda. Talvez, por esta razão as concentrações de todas as PFAs avaliadas neste estudo tenham apresentado aumento sérico

significativo no grupo de caprinos com artrite devido a CAE, como pode ser observado nos resultados aqui relatados.

Tabela 22. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **proteína total** (g/dL) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	6,1±0,66 ^{Aa}	5,9±0,58 ^{Aa}	5,8±0,61 ^{Aa}	6,1±0,55 ^{Aa}	6,2±0,71 ^{Aa}	6,0±0,60 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	6,5±0,81 ^{ABa}	6,3±0,72 ^{ABa}	6,2±0,66 ^{ABa}	6,4±0,70 ^{ABa}	6,5±0,67 ^{Aa}	6,3±0,70 ^{Aa}
Mastite	7,0±0,67 ^{Ba}	6,9±0,71 ^{Ba}	6,7±0,75 ^{Ba}	6,8±0,60 ^{Ba}	6,7±0,66 ^{Aa}	6,5±0,59 ^{Aa}
Ectima contagioso	6,3±0,59 ^{ABa}	6,1±0,63 ^{ABa}	6,0±0,66 ^{ABa}	6,1±0,77 ^{ABa}	6,2±0,81 ^{Aa}	6,1±0,58 ^{Aa}

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

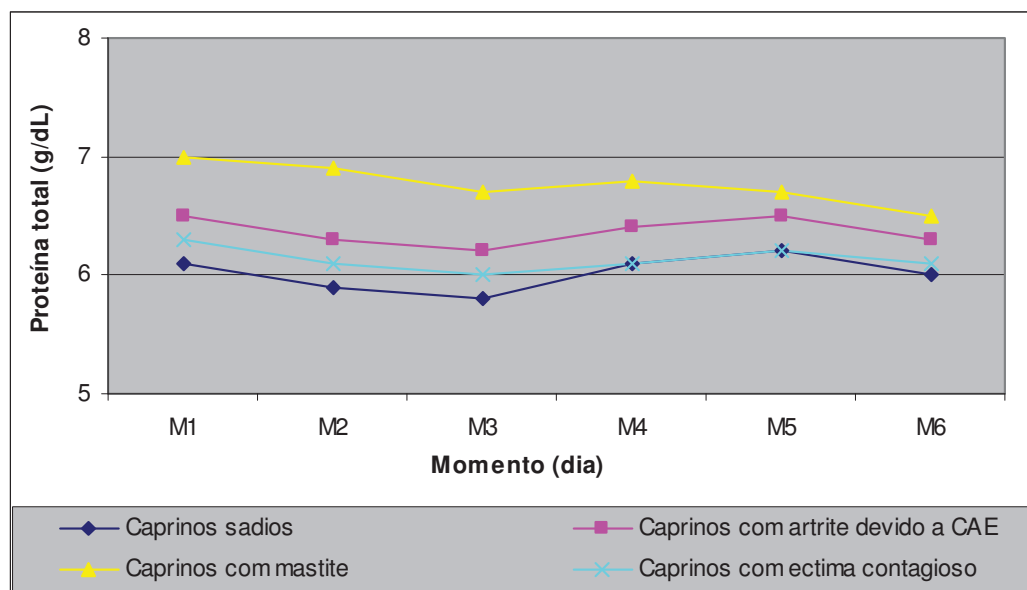


Figura 23. Médias das concentrações séricas de **proteína total** (g/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 23. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **ceruloplasmina** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	9,2±3,53 ^{Aa}	11,3±3,77 ^{Aa}	9,8±2,95 ^{Aa}	12,3±3,11 ^{Aa}	10,9±3,44 ^{Aa}	13,0±3,16 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	49,6±6,75 ^{Ba}	54,0±8,22 ^{Ba}	50,1±7,33 ^{Ba}	40,6±5,15 ^{Bb}	37,5±4,66 ^{Bb}	31,3±4,03 ^{Bc}
Mastite	83,7±7,45 ^{Ca}	90,7±8,33 ^{Ca}	84,5±6,65 ^{Ca}	73,1±7,32 ^{Cb}	60,9±5,89 ^{Cc}	52,7±6,12 ^{Cd}
Ectima contagioso	31,5±4,09 ^{Da}	34,6±3,76 ^{Da}	29,6±3,03 ^{Db}	30,2±3,67 ^{Db}	25,6±3,34 ^{Dc}	24,5±3,85 ^{Ac}

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

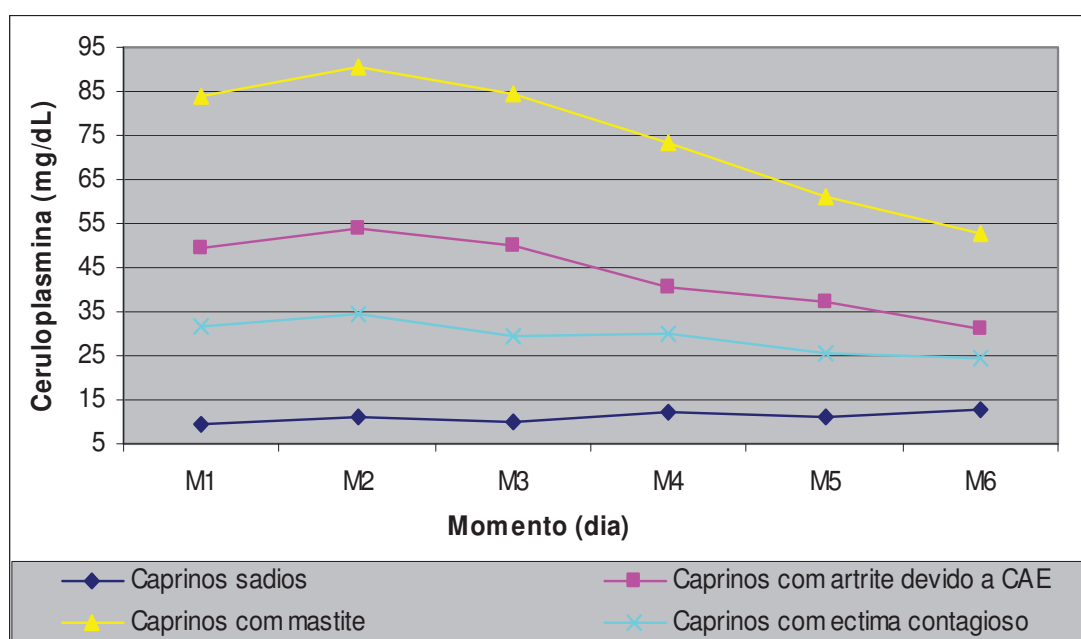


Figura 24. Médias das concentrações séricas de **ceruloplasmina** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Os animais acometidos por mastite apresentaram as maiores elevações na concentração sérica de ceruloplasmina, com aumento de 9,1 vezes em relação ao grupo sadio. Foi constatado um pico nas concentrações séricas no segundo dia de internação (M2), decrescendo posteriormente. Valores significativamente menores só foram observados no quarto momento experimental (M4) e, embora as concentrações séricas tenham diminuído, ainda apresentaram-se elevadas em relação aos animais sadios (Tabela 23 e Figura 24). A literatura verificada não revelou estudos acerca do assunto, corroborando o relato de ECKERSALL (2006) que afirmou haverem poucos estudos com PFAs em ruminantes que não sejam da espécie bovina.

Os caprinos com ectima contagioso mostraram resposta mais branda dos níveis de ceruloplasmina, porém aumentos significativos em relação ao grupo sadio foram verificados. Inicialmente foi constatado aumento de 3,4 vezes, oscilando ao longo do período experimental e alcançando valores semelhantes aos do grupo sadio no último momento de estudo (M6) (Tabela 23 e Figura 24). HAIG et al. (2002), em revisão sobre os efeitos imunomoduladores do vírus do ectima contagioso, um poxvírus, e a resposta imune do hospedeiro, afirmaram que a interleucina-10 (IL-10) vírica inibe a produção e atividade do interferon hospedeiro, além de suprimir a produção de citocinas, dentre elas o FNT- α , IL1- β , IL-2 e IL-8, por macrófagos e queratinócitos ativados, permitindo, dessa forma, a replicação do vírus nas células hospedeiras. Sabe-se que a produção de PFAs pelos hepatócitos é mediada por estas citocinas. Desta forma, além do fato do ectima contagioso ser uma doença de típica resposta imune local e não sistêmica, esta inibição da produção e liberação de citocinas pode contribuir para a supressão de produção e liberação de PFAs, resultado que foi constatado nesta pesquisa nos animais acometidos por ectima contagioso.

Nas concentrações séricas de transferrina, não foi observada alteração estatisticamente significativa entre doentes e sadios, embora biologicamente tenha sido verificado diminuição desta PFA negativa em todos os doentes (Tabela 24 e Figura 25).

No que tange às concentrações séricas de haptoglobina, os animais com artrite secundária a CAE apresentaram aumento inicial de 6,7 vezes em relação aos sadios,

apresentando um pico no segundo dia de internação (M2), decrescendo posteriormente, embora este decréscimo não tenha se convertido em diminuição significativa em relação às concentrações iniciais (Tabela 25 e Figura 26).

Tabela 24. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **transferrina** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	233±22 ^{Aa}	240±25 ^{Aa}	245±29 ^{Aa}	240±30 ^{Aa}	232±24 ^{Aa}	241±18 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	222±35 ^{Aa}	229±30 ^{Aa}	231±38 ^{Aa}	225±26 ^{Aa}	230±29 ^{Aa}	235±31 ^{Aa}
Mastite	214±33 ^{Aa}	219±27 ^{Aa}	227±30 ^{Aa}	232±24 ^{Aa}	230±36 ^{Aa}	241±30 ^{Aa}
Ectima contagioso	229±26 ^{Aa}	233±22 ^{Aa}	230±28 ^{Aa}	234±33 ^{Aa}	227±25 ^{Aa}	235±25 ^{Aa}

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

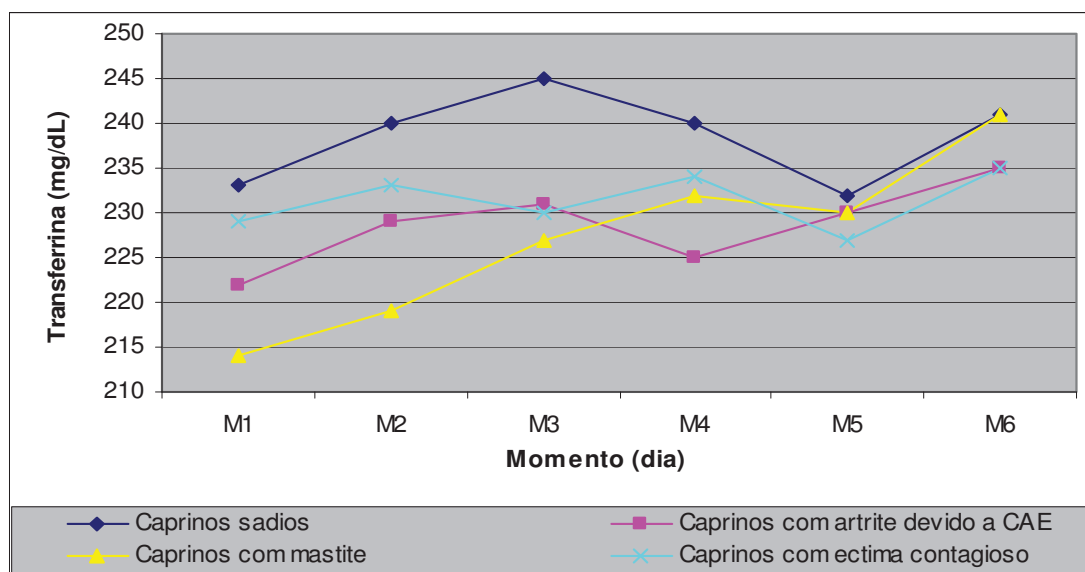


Figura 25. Médias das concentrações séricas de **transferrina** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Os caprinos com mastite apresentaram elevações consistentes de haptoglobina, verificando-se um pico no terceiro dia de internação (M3), refletido num aumento de 8,8 vezes em relação ao grupo sadio. Posteriormente, as concentrações decresceram, só apresentando valores significativamente menores em relação aos valores iniciais no último momento experimental (M6), embora ainda fossem maiores que as dos animais sadios (Tabela 25 e Figura 26).

Os caprinos com ectima contagioso mostraram resposta mais branda quanto ao aumento de haptoglobina, embora significativa em relação ao grupo sadio. Verificou-se elevação sérica inicial de 3,3 vezes, oscilações entre o M2 e M4 e a partir daí decréscimo das concentrações séricas (Tabela 25 e Figura 26).

Este comportamento variável de uma mesma PFA em diferentes enfermidades já foi descrito por BAUMANN et al. (1989), que demonstraram que combinações diferentes de citocinas – dentre elas IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e FNT- α – induzem a produção de diferentes PFAs em hepatócitos de ratos. CONNER et al. (1988) salientaram ainda que, nem todas as PFAs são igualmente sensíveis e rápidas quanto a sua resposta à um “fator desencadeante”. Portanto, é esperado que cada proteína reaja distintamente para cada tipo de enfermidade, sendo necessário cada vez mais pesquisas envolvendo variados tipos de doenças. Como exemplo, PATELLI et al. (2008), estudando caprinos com tripanossomíase experimentalmente induzida, relataram não ter sido observada nenhuma alteração significativa quanto às concentrações séricas de haptoglobina, discordando dos resultados observados em todos os animais doentes do presente trabalho.

A concentração média de α_1 -glicoproteína ácida nos animais acometidos por artrite secundária a CAE mostrou aumento inicial de 4,1 vezes em relação aos animais sadios, decrescendo ao longo do estudo, embora só tenha sido constatada diminuição significativa no último dia de estudo (M6) (Tabela 26 e Figura 27). A α_1 -glicoproteína ácida já foi encontrada em altas concentrações em pacientes humanos com artrite (HAVENAAR et al. 1997), embora estudos envolvendo a expressão desta PFA em caprinos acometidos por artrite devido a infecção pela CAE provavelmente só tenha

sido reportada por CECILIANI et al. (2009) até então. Estes autores afirmaram que o modelo de infecção para artrite provocada pelo vírus da CAE é satisfatoriamente exequível para avaliação da expressão local, ou seja articular, de α_1 -glicoproteína ácida. Os autores concluíram que, frente ao modelo experimental, a concentração sérica desta proteína não se mostrou alterada nos animais com artrite e que a expressão de mRNA de α_1 -glicoproteína ácida foi expressa em níveis basais nas células sinoviais durante a fase aguda da artrite. Segundo os autores, esta proteína não deve ser considerada um marcador de fase aguda para esta doença, embora possivelmente, a atividade de α_1 -glicoproteína ácida durante a infecção pela CAE esteja modificada quando comparada a animais sadios. A conclusão destes autores discorda dos resultados observados neste estudo, embora aqui estejamos tratando de animais com infecção de ocorrência natural. A concentração sérica de α_1 -glicoproteína ácida mostrou-se significativamente elevada em relação aos caprinos sadios, durante todo o período experimental, podendo-se inferir que esta PFA mostrou ser um confiável biomarcador de inflamação em casos de artrite caprina secundária a CAE. Fato interessante é que CECILIANI et al. (2009) admitem que, embora em sua pesquisa a concentração sérica de α_1 -glicoproteína ácida não tenha se mostrado significativamente elevada nos animais acometidos, quando comparada a animais sadios, ela pode apresentar atividade diferenciada.

Os caprinos com mastite, inicialmente apresentaram aumento sérico de α_1 -glicoproteína ácida de 5,1 vezes em relação ao grupo sadio. No quarto dia de internação (M4) foi verificada diminuição significativa em relação às concentrações iniciais e no último momento foi constatada a menor concentração sérica, embora ainda significativamente mais elevada que no grupo sadio (Tabela 26 e Figura 27).

Nos animais com ectima contagioso, o aumento sérico de α_1 -glicoproteína ácida foi de 2,1 vezes em relação aos sadios. Foi observado decréscimo ao longo do período experimental, sendo a diminuição sérica significativa somente no penúltimo dia de acompanhamento (M5), mantendo-se estável até o M6 (Tabela 26 e Figura 27).

Quanto às concentrações plasmáticas de fibrinogênio, nos caprinos acometidos por artrite secundária a CAE, as concentrações mantiveram-se elevadas durante todo o período de estudo. Foi constatado um pico no terceiro dia de internação (M3), quando se registrou aumento de 1,9 vezes em relação ao grupo sadio, decrescendo a partir daí, embora não o suficiente para ser significativamente menor que as concentrações verificadas no início do acompanhamento (M1) (Tabela 27 e Figura 28). SCHMIDT et al. (2007) não observaram aumento na concentração plasmática de fibrinogênio em cabras soropositivas para CAE quando comparadas a animais soronegativos. No entanto, estes autores não descreveram alterações clínicas nos animais utilizados, ao contrário do que foi feito na pesquisa em questão, em que todos os animais acometidos por CAE eram também portadores de quadro agudo de artrite.

Os animais com mastite apresentaram as maiores concentrações plasmáticas de fibrinogênio, sendo constatado um pico no terceiro dia (M3), aumento de 2,5 vezes em relação ao grupo sadio. A partir daí observou-se decréscimo das concentrações plasmáticas, porém não foi convertido em diminuição significativa em relação aos valores verificados inicialmente (M1) (Tabela 27 e Figura 28).

Nos animais com ectima contagioso, a maior concentração plasmática de fibrinogênio foi registrada no segundo dia de internação (M2), um aumento de 1,5 vezes em relação aos animais sadios, com posterior decréscimo. No entanto, mesmo com o decréscimo, no último momento experimental (M6) as concentrações plasmáticas não diferiram significativamente dos valores constatados no primeiro dia de estudo (M1) (Tabela 27 e Figura 28).

Não foram encontrados na literatura compilada estudos que discutissem o comportamento do fibrinogênio plasmático em caprinos acometidos por mastite ou por ectima contagioso.

Tabela 25. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **haptoglobina** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	20,7±3,09 ^{Aa}	22,5±3,17 ^{Aa}	19,8±3,01 ^{Aa}	21,0±2,87 ^{Aa}	23,1±3,18 ^{Aa}	20,5±3,03 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	139±21 ^{Ba}	145±26 ^{Ba}	141±29 ^{Ba}	135±23 ^{Ba}	126±30 ^{Ba}	112±21 ^{Ba}
Mastite	160±25 ^{Ca}	168±26 ^{Ba}	175±30 ^{Ca}	151±26 ^{Ba}	139±32 ^{Bab}	127±24 ^{Bb}
Ectima contagioso	69,0±8,7 ^{Da}	61,6±7,9 ^{Ca}	65,1±8,3 ^{Da}	60,9±6,8 ^{Cab}	56,4±6,0 ^{Cab}	50,3±6,3 ^{Cb}

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

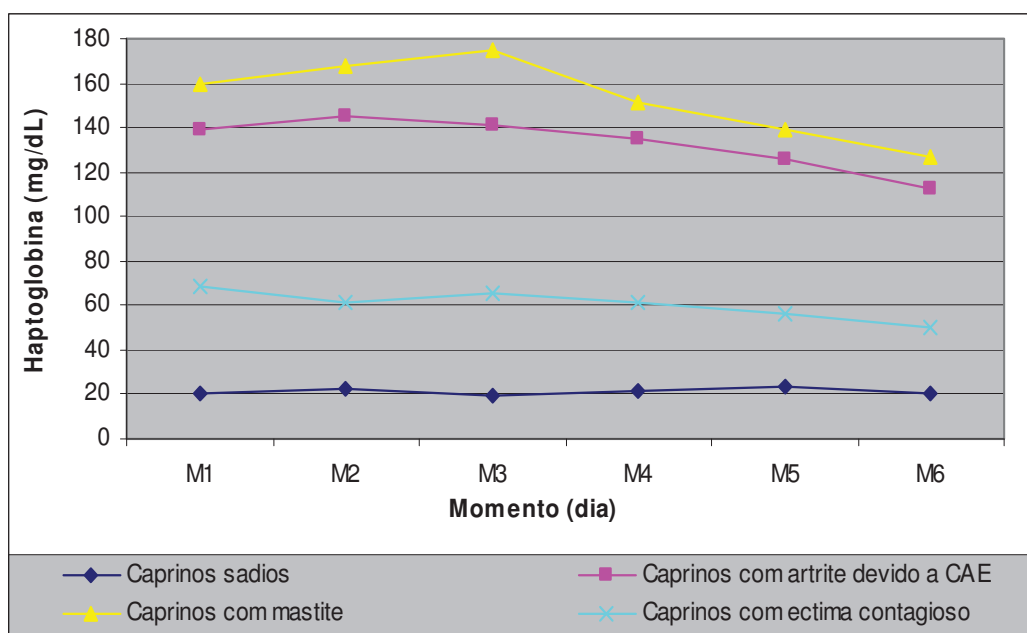


Figura 26. Médias das concentrações séricas de **haptoglobina** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 26. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de **α_1 -glicoproteína ácida** (mg/dL) de caprinos saudáveis e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	7,4 $\pm$ 2,7 ^{Aa}	9,2 $\pm$ 2,2 ^{Aa}	9,0 $\pm$ 2,03 ^{Aa}	8,6 $\pm$ 1,93 ^{Aa}	9,5 $\pm$ 2,09 ^{Aa}	8,3 $\pm$ 1,97 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	30,4 $\pm$ 5,5 ^{Ba}	31,7 $\pm$ 5,8 ^{Ba}	28,5 $\pm$ 4,7 ^{Ba}	30,3 $\pm$ 5,1 ^{Ba}	27,8 $\pm$ 4,7 ^{Ba}	21,5 $\pm$ 4,0 ^{Bb}
Mastite	38,1 $\pm$ 4,8 ^{Ca}	33,9 $\pm$ 5,3 ^{Cab}	37,2 $\pm$ 5,0 ^{Ca}	31,8 $\pm$ 4,7 ^{Cb}	30,2 $\pm$ 4,9 ^{Cb}	25,6 $\pm$ 4,0 ^{Cc}
Ectima contagioso	15,4 $\pm$ 2,3 ^{Da}	14,2 $\pm$ 2,1 ^{Da}	16,1 $\pm$ 2,6 ^{Da}	15,1 $\pm$ 1,9 ^{Da}	12,2 $\pm$ 1,5 ^{Db}	11,4 $\pm$ 1,8 ^{Db}

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

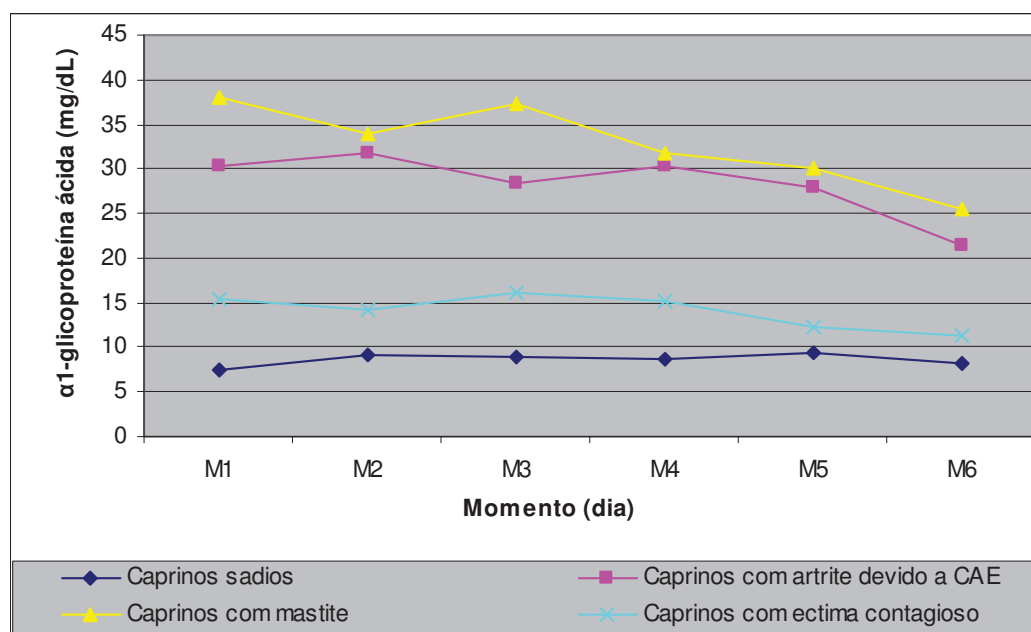


Figura 27. Médias das concentrações séricas de **α_1 -glicoproteína ácida** (mg/dL) de caprinos saudáveis e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 27. Médias e desvios-padrão das concentrações plasmáticas de **fibrinogênio** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos doentes atendidos no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP/Câmpus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	379±41 ^{Aa}	382±44 ^{Aa}	375±36 ^{Aa}	402±49 ^{Aa}	391±45 ^{Aa}	432±51 ^{Aa}
Grupo doente						
Artrite (devido a CAE)	677±66 ^{Ba}	702±72 ^{Ba}	721±83 ^{Ba}	691±72 ^{Ba}	682±69 ^{Ba}	611±75 ^{Ba}
Mastite	883±92 ^{Ca}	907±98 ^{Ca}	923±94 ^{Ca}	886±91 ^{Ca}	875±83 ^C	845±90 ^{Ca}
Ectima contagioso	498±57 ^{Da}	554±60 ^{Da}	522±63 ^{Da}	478±51 ^{Da}	494±53 ^{Da}	470±48 ^{Aa}

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

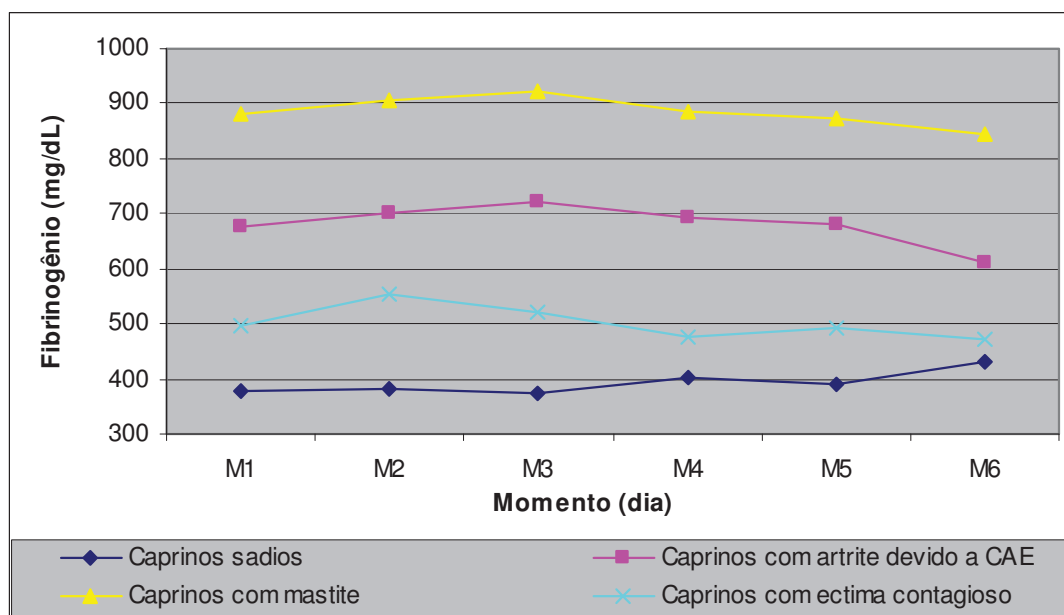


Figura 28. Médias das concentrações plasmáticas de **fibrinogênio** (mg/dL) de caprinos sadios e caprinos com artrite (devido a CAE), mastite ou ectima contagioso, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

6. CONCLUSÕES

Nas três espécies ruminantes estudadas, o proteinograma sérico obtido através da técnica de eletroforese SDS-PAGE, mostrou-se mais útil como exame complementar ao diagnóstico das enfermidades avaliadas que o leucograma.

Na espécie bovina, dentre as proteínas de fase aguda positivas, a haptoglobina teve destaque quanto a sua resposta sérica frente às três enfermidades estudadas. Ceruloplasmina, α_1 -glicoproteína ácida e fibrinogênio demonstraram moderada atividade.

Na espécie ovina as proteínas de fase aguda ceruloplasmina, haptoglobina e α_1 -glicoproteína ácida mostraram moderada atividade frente às enfermidades avaliadas. Fibrinogênio apresentou importância minoritária nesta espécie.

Na espécie caprina, os animais acometidos por ectima contagioso não apresentaram boa responsividade quanto às alterações nas concentrações séricas das proteínas de fase aguda frente às enfermidades estudadas. Ceruloplasmina, haptoglobina e α_1 -glicoproteína ácida se destacaram como biomarcadores de foco inflamatório/infeccioso em animais acometidos por artrite secundária a CAE e mastite. Fibrinogênio mostrou importância minoritária nesta espécie.

Transferrina comportou-se biologicamente como PFA negativa em todos os grupos estudados, embora tenha apresentado significância estatística apenas em bovinos acometidos por mastite.

7. REFERÊNCIAS

ALSEMGEEST, S. P. M.; LAMBOOY, I. E.; WIERENGA, H. K.; DIELEMAN, S. J.; MEERKERK, B.; Van EDEREN, A. M.; NIEWOLD, T. A. Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid A (SAA) and haptoglobin (HP) in calves. **Veterinary Quarterly**, Boston, v. 17, p. 9–12, 1995.

ALVES, F. S. F.; CHAPAVAL, L.; PINHEIRO, R. R. **Enfermidades e microrganismos passíveis de transmissão pela carne, leite e derivados de caprinos e ovinos**. EMBRAPA Caprinos. Sobral, jun. 2006. Disponível em: <<http://www.cnpq.embrapa.br/doc59.pdf>>. Acesso em 15 ago. 2010.

ANOSA, V. O.; OGBOGU, D. A. The effect of parturition on the blood picture of sheep. **Research in Veterinary Science**, London, v. 26, p. 380 – 382, 1979.

AYRES, M. C. C.; DOREA, R. D.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; VIANA, R. B.; LARA, M. C. C. S.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; BIRGEL, E. H. Dinâmica do leucograma de caprinos jovens, do nascimento até seis meses de idade: influência do fator racial. In: VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, 2009, Belo Horizonte. **Anais...** Supl. 1, 2009, p. 261-266.

BARROS, C. S. L. **Ectima contagioso**. In: Doenças de ruminantes e equinos, Vol. 2. 2. ed. São Paulo: Varela. p. 72-76. 2006.

BAUMANN, H.; PROWSE, K. R.; MARINKOVIĆ, S.; WON, K. A.; JAHREIS, G. P. Stimulation of hepatic acute phase response by cytokines and glucocorticoids. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 557, p. 280–296. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1989.tb24021.x. 1989.

BORGES, N. C.; VIEIRA, D.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S. Valores leucocitários e nível de fibrinogênio plasmático de bovinos com pododermatite. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 97-102, 2006.

BRUM, K. B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI, M. C. S. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 39-42, 2007.

CECILIANI, F.; POCACQUA, V.; MIRANDA-RIBERA, A.; BRONZO, V.; LECCHI, C.; SARTORELLI, P. α 1-acid glycoprotein modulates apoptosis in bovine monocytes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, n. 116. p. 145-152. 2007.

CECILIANI, F.; RAHMAN, M.; LECCHI, C.; MACCALLI, M.; PISONI, G.; SARTORELLI, P. Systemic and in vitro expression of goat α ₁-acid glycoprotein during caprine arthritis encephalitis vírus infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, n. 131, p. 50-58. 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**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 440-443, 2000.

CHASSAGNE M.; BARNOUIN J.; CHACORNAC J. P. Biological predictors for early clinical mastitis occurrence in Holstein cows under field conditions in France. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 35, p. 29-38, 1998.

COLE, D. J.; ROUSSEL, A. J.; WHITNEY, M. S. Interpreting a bovine CBC: evaluating the leukon and acute-phase proteins. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 92, n. 5, p. 470-478, 1997.

COLLA, M. F.; VALLE, S. F.; SECCHI, P.; DUDA, N.; SCALON, M.; DÜRR, J. W.; GONZÁLEZ, F. Valores de haptoglobina plasmática em vacas com diferentes contagens de células somáticas em amostras de leite. **Ciência Animal Brasileira**, Belo Horizonte, v. 10, Suppl. 1, p. 739-743, 2009.

CONNER, J. G.; ECKERSALL, P. D.; DOHERTY, M.; DOUGLAS, T. A. Acute phase response and mastitis in the cow. **Research in Veterinary Science**, London, v. 41, n. 1, p. 126-128, 1986.

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

CONTRERAS, A.; LUENGO, C.; SÁNCHEZ LÓPEZ, A.; CORRALES, J.C. **Etiología de la infección intramamaria caprina en relación con los programas de control**. In: XXVI Jornada Científica de la SEOC, Sevilla, p.71-83, 2001.

COORAY, R.; WALLER, K. P.; VENGE, P. Haptoglobin comprises about 10% of granule protein extracted from bovine granulocytes isolated from healthy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 119, n. 3-4, p. 310-315, 2007.

COSTA, N. A.; SIMÃO, L. C. V.; FAGLIARI, J. J.; SANTOS, R. A.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Alterações na concentração do fibrinogênio e da haptoglobina em ovelhas com mastite infectadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 12, p. 119-121. 2007. Suplemento.

COSTA, N. A.; SIMÃO, L. C. V.; FAGLIARI, J. J.; SANTOS, R. A.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Alterações na concentração do fibrinogênio e da haptoglobina em ovelhas com mastite infectadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 12, p. 119-121, 2010. Suplemento.

DARAMOLA, J. J.; ADELOYE, A. A.; FATOBA, T. A.; SOLADYE, A. O. Haematological and biochemical parameters of West African Dwarf goats. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 9, p. 743-748, 2005.

De JONG. G.; Van DIJK, J. P.; Van EJK, H. G. The biology of transferrin. **Clinica Chimica Acta**, v. 190, n. 1-2, p. 1-46. 1990.

DIRKSEN, G., GRÜNDER, H., GRUNERT, E., KRAUSE, D., STÖBER, M. **Rosenberger**: exame clínico de ruminantes. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1993. 419p.

EATON, J. W.; BRANDT, P.; MAHONEY, J. R.; LEE Jr, J. T. Haptoglobin: a natural bacteriostat. **Science**, Washington, v. 215, n. 4533, p. 691-693, 1982.

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**, Paris, v. 151, p. 577-584, 2000.

ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; McCOMB, C.; GOGARTH, C. J.; SAFI, S.; WEBER, A.; McDONALD, T.; NOLAN, A. M.; FITZPATRIK, J. L. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. **Veterinary Record**, London, v. 14, p. 35-41, 2001.

ECKERSALL, P.D. The time is right for acute phase proteins assays. **British Veterinary Journal**, London, n. 168, p. 03-05, 2004.

ECKERSALL, P. D. Acute phase proteins as biomarkers of disease in production animals. In: **Proceedings...**, Tucson, v. 57, 2006.

ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; NOLAN, A. M.; KNIGHT, C. H.; MCCOMB, C.; WATERSTON, M. M.; HOGARTH, C. J.; SCOTT, E. M.; FITZPATRICK, J. L. Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 1488-1501, 2006.

ECKERSALL, P. D.; LAWSON, F. P.; BENCE, L.; WATERSTON, M. M.; LANG, T. L.; DONACHIE, W.; FONTAINE, M. C. Acute phase protein response in an experimental model of ovine caseous lymphadenitis. **Biomed Central Veterinary Research**, v. 3, n. 35, 2007.

EGLI, C. P.; BLUM, J. W. Clinical, haematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling Simmentaler calves held in a cow - calf operation. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin**, v. 45, p. 99-118, 1998.

FAGLIARI, J. J. Estudo clínico e laboratorial da pneumonia de bezerros induzida pela inoculação intrabronquial de *Mannheimia haemolytica*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 1, Feb. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000100002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 dez. 2010. DOI: 10.1590/S0102-09352003000100002.

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**, Belo Horizonte, v. 58, n.3, p. 450-453, 2006.

FAGLIARI, J. J.; PASSIPIERI, M.; OKUDA, H. T.; SILVA, S. L.; SILVA, P. C. Serum protein concentrations, including acute phase proteins, in calves with hepatogenous photosensitization. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 6, p. 1355-1358. 2007.

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

FAGLIARI, J. J. ; WEISS, D. J.; McCLENANHAM, D.; EVANSON, O. A. Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000400001&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 18 dez. 2010. DOI: 10.1590/S0102-09352003000400001.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; MARCHIÓ, W.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de vacas das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah durante a gestação, no dia do parto e no puerpério. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 273-282. 1998.

FAGOONEE S.; GBUREK J.; HIRSCH E.; MARRO S.; MOESTRUP S. K.; LAURBERG J. M.; CHRISTENSEN E. I.; SILENGO L.; ALTRUDA F.; TOLOSANO E. Plasma protein

haptoglobin modulates renal iron loading. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 166, p. 973-983, 2005.

FOURNIER, T.; BOUACH, N.; DELAFOSSE, C.; CRESTANI, B.; AUBIER, M. Inducible expression of the α_1 -acid glycoprotein gene by alveolar macrophages: prostaglandin E₂ and cyclic AMP act as new positive stimuli. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 163, p. 2883-2890. 1999.

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

FRIEDRICHS, W. E.; NAVARIJOASHBAUGH, A. L.; BOWMAN, B. H.; YANG, F. Expression and Inflammatory Regulation of Haptoglobin Gene in Adipocytes. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 209, p. 250-256, 1995.

GANHEIM, C.; HULTÉN, C.; CARLSSON, U.; KINDHAL, H.; NISKANEN, R.; WALLER, K. P. The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhea virus and/or *Mannheimia haemolytica*. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, p. 183-190. 2003.

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

GHORPADE, A.; PERSIDSKAIA, R.; SURYADEVARA, R.; CHE, M.; LIU, X. J.; PERSIDSKY, Y.; GENDELMAN, H. E. Mononuclear phagocyte differentiation, activation, and viral infection regulate matrix metalloproteinase expression: implications for human immunodeficiency virus type 1-associated dementia. **Journal of Virology**, Washington, v. 75, p. 6572–6583, 2001.

GILBERT, R. P.; GRÖHN, Y. T.; MILLER, P. M.; HOFFMAN, D. J. Effect of parity on periparturient neutrophil function in dairy cows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 36, p. 75-82, 1993.

GODSON, D. L.; CAMPOS, M.; ATTAH-POKU, S. K.; REDMOND, M. J.; CORDEIRO, D. M.; SETHI, M. S.; HARLAND, R. J.; BABIUK, L. A. Serum haptoglobin as an indicator of acute phase response in bovine respiratory disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, n. 51, p. 277-292, 1996.

GONNERMAN, W. A.; LIM, M.; SIPE, J. D.; HAYES, K. C.; CATHCART, E. S. The acute phase response in Syrian hamsters elevates apolipoprotein serum amyloid A (apoSAA) and disrupts lipoprotein metabolism. **Amyloid: International Journal of Experimental Clinical Investigation**, v. 3, p. 261–269, 1996.

GONZÁLEZ, F. H. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J. J. Haptoglobina en rumiantes: generalidades y posibles aplicaciones clínicas. **Anales de Veterinaria Murcia**, Murcia, v. 23, p. 5-17, 2007.

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

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M. J. M.; NIEWOLD, T. A.; KOOPMANS, S. J. Acute phase reaction and acute phase proteins. **Journal of Zhejiang University Science**, Zhejiang, v. 11, n. 6B, p. 1045-1056, 2005.

HAIG, D. M.; THOMAS, J.; McINNES, C.; McCAUGHAN, C.; IMLACH, W.; MERCER, A.; FLEMING, S. Orf virus immuno-modulation and the host immune response. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 87, p. 395-399, 2002.

HAVENAAR, E. C.; DOLHAIN, R. J. E. M.; TURNER, G. A.; GOODARZI, M. T.; VAN OMMEN, E. C. R.; BREEDVELD, F. C.; VAN DIJK, W. **Do synovial fluid acute phase proteins from patients with rheumatoid arthritis originate from serum?** 1997. Disponível em: < <http://www.springerlink.com/content/lj5m1002880m02r0/fulltext.pdf>>. Acesso em: 17 jan 2011.

HEEGAARD, P. M. H.; GODSON, D. L.; TOUSSAINT, M. J. M.; TJØRNEHØJ, K.; LARSEN, L. E.; VIUFF, B.; RØNSHOLT, L. The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 77, p. 151-159, 2000.

HIRVONEN, J.; PYÖRÄLÄ, S. Acute phase response in dairy cows with surgically-treated abdominal disorders. **The Veterinary Journal**, London, v. 155, p. 53-61, 1998.

HIRVONEN, J.; HIETAKORPI, S.; SALONIEMI, H. Acute phase response in emergency slaughtered dairy cows. **Meat Science**, Barking, v. 46, n. 03, p. 249-257, 1997.

HIRVONEN, J. **Hirvonen's thesis on acute phase response in dairy cattle**. 2000. Tese (Doutorado) – Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Helsinki, 2000.

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**, Champaign, v. 87, p. 3778-3784, 2004.

HOCHEPIED, T.; BERGER, F. G.; BAUMANN, H.; LIBERT, C. α 1-Acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. **Cytokine Growth Factor Review**, v. 14, n. 01, p. 25–34, 2003.

HÖFNER, M. C.; FOSBERY, M. W.; ECKERSALL, P. D. Haptoglobin response of cattle infected with foot-and mouth disease virus. **Research in Veterinary Science**, London, n. 57, p. 125-128, 1994.

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

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993. 417p.

JARRETT, I. G. **A polymeric form of haemoglobin-binding protein in sheep following metabolic and hormonal disturbance**. 1972. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4351351> > Acesso em: 17 dez. 2010.

JENSEN, L. E.; WHITEHEAD, A. S. Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. **Biochemistry Journal**, Jena, v. 334, p. 489-503, 1998.

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

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. 932 p.

KIDD, R. Interpreting neutrophil numbers. **Veterinary Medicine**, v. 86, p. 975-982, 1991.

KISILEVSKY, R.; LINDHORST, E.; ANCSIN, J. B.; YOUNG, D.; BAGSHAW, W. Acute phase serum amyloid A (SAA) and cholesterol transport during acute inflammation: a hypothesis. **Amyloid: Internacional Journal of Experimental and Clinical Investigation**, v. 3, p. 252–260, 1996.

KNOWLES, T. G.; EDWARDS, J. E.; BAZELEY, K. J.; BROWN, S. N.; BUTTERWORTH, A.; WARRISS, P. D. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. **The Veterinary Record**, London, v. 147, p. 593-598, 2000.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v.227, p.680-685, 1970.

LECCHI, C.; CECILIANI, F.; BERNASCONI, S.; FRANCIOSI, F.; BRONZO, V.; SARTORELLI, P. Bovine alpha-1 acid glycoprotein can reduce the chemotaxis of bovine monocytes and modulate CD18 expression. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 39, n. 5, 14p, 2008.

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

McSHERRY, B. J.; HORNEY, F. D.; deGROOT, J. J. Plasma Fibrinogen in normal and sick cows. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ottawa, v. 34, p. 191-197, 1970.

MENDONÇA, F. S.; CAMARGO, L. M.; FREITAS, S. H.; DÓRIA, R. G. S.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; EVÊNCIO NETO, J. Aspectos clínicos e patológicos de um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos pela ingestão de *Brachiaria decumbens* (Gramineae) no município de Cuiabá, Mato Grosso. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 4, p. 1034-1041, 2008.

MILHAU, N.; RENSON, P.; DREESEN, I.; GREENLAND, T.; BELLATON, C.; GUINGUEN, F.; MORNEX, J. F.; LE JAN, C. Viral expression and leukocyte adhesion after in vitro infection of goat mammary gland cells with caprine arthritis-encephalitis virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 103, p. 93-99. 2005.

MOHRI, M.; SHARIFI, K.; EIDI, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. **Research in Veterinary Science**, London, v. 83, p. 30 - 39, 2007.

MOOJEN, V. **Artrite encefalite caprina**. In: Doenças de ruminantes e equinos, Vol. 1. 2. ed. São Paulo: Varela. p. 55-64. 2006.

MORK, T.; KVITILE, B.; MATHISEN, T.; JORGENSEN, H. J. Bacteriological and molecular investigations of *Staphylococcus aureus* in dairy goats. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 141, p. 134-141. 2010.

MOSHAGE, H. Cytokines and the hepatic acute phase response. **Journal of Pathology**, Sussex, v. 181, p. 257-266, 1997.

MURATA, H. Stress and acute phase protein response: an inconspicuous but essential linkage. **The Veterinary Journal**, London, v. 173, p. 473-474, 2007.

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

NIELSEN, B. H.; JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P. H.; NIEWOLD, T. A.; HEEGAARD, P. M. H. Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. **Veterinary Record**, London, n. 154, p. 361-365, 2004.

O'MAHONY, M. C. O.; HEALY, A. M.; HARTE, D.; WALSH, K. G.; TORGERSON, P. R.; DOHERTY, M. L. Milk amyloid A: Correlation with cellular indices of mammary inflammation in cows with normal and raised serum amyloid A. **Research in Veterinary Science**, London, v. 80, p. 155–161, 2006.

OHTSUKA, H.; KUDO, K.; MORI, K.; NAGAI, F.; HATSUGAYA, A.; TAJIMA, M.; TAMURA, K.; HOSHI, F.; KOIWA, M.; KAWAMURA, S. Acute phase response in naturally occurring coliform mastitis. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 63, n. 6, p. 675-678, 2001.

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. **Journal of Neuroscience**, Amsterdam, v. 22, p. 6578-6586, 2002.

PATELLI, T. H. C.; MARQUES, L. C.; FAGLIARI, J. J.; SILVA, P. C. Perfil eletroforético das proteínas de fase aguda em caprinos experimentalmente infectados com

Trypanosoma evansi. **Brazilian Journal of Veterinary Research in Animal Science**, São Paulo, v. 45, p. 481-187, 2008. Suplemento.

PEDERSEN, L. H.; AALBØK, B.; RØNTVED, C. M.; INGVARTSEN, K. L.; SORENSEN, N. S.; HEEGAARD, P. M. H.; JENSEN, H. E. Early pathogenesis and inflammatory response in experimental bovine mastitis due to *Streptococcus uberis*. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 128, p. 156-164, 2003.

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

PETRIE, A.; WATSON, P. **Estatística em ciência animal e veterinária**. 2.ed. Roca: São Paulo, 2009. 236p.

PFEFFER A.; ROGERS K. M.; O'KEEFFE L.; OSBORN P. J. Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. **Research in Veterinary Science**, London, v. 55, n. 3, p.360-366, 1993.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513 p.

PURISCO, E.; LEMOS, R. A. A. **Plantas que causam fotossensibilização hepatógena**. In: Doenças de impacto econômico em bovinos de corte. 1. ed. Editora UFMS, Campo Grande, p. 231-244. 2008.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine**. 10. ed. Saunders: London, 2007.

REBHUN, W. C. **Doenças do gado leiteiro**. 1. ed. Ed. Roca, São Paulo. p. 339-345. 2000.

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**, London, v. 150, p. 605-607, 2002.

RIET-CORREA, F. **Onfalite e artrite**. In: Doenças de ruminantes e equinos, Vol. 1. 2. ed. São Paulo: Varela. p. 327-329. 2006.

RINALDI, M.; CECILIANI, F.; LECCHI, C.; MORONI, P.; BANNERMAN, D. D. Differential effects of α 1-acid glycoprotein on bovine neutrophil respiratory burst activity and IL-8 production. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 126, n. 3-4, p. 199-210, 2008.

RUBEL, C.; FERNÁNDEZ, G. C.; DRAN, G.; BOMPADRE, M. B.; ISTURIZ, M. A.; PALERMO, M. S. Fibrinogen promotes neutrophil activation and delays apoptosis. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 166, p. 2002-2010, 2001.

SACO, Y.; FINA, M.; GIMENEZ, M.; PATO, R.; PIEDRAFITA, J.; BASSOLS, A. Evaluation of serum cortisol, metabolic parameters, acute phase proteins and faecal corticosterone as indicators of stress in cows. **Veterinary Journal**, London, v. 177, p. 439-441, 2008.

SALONEN, M.; HIRVONEN, J.; PYORALA, S.; SANKARI, S.; SANDHOLM, M. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. **Research in Veterinary Science**, London, v. 60, p. 88-91, 1996.

SANDHOLM, M.; KORHONEN, H. Infection of the udder-inflammation antibacterial defence mechanisms of the udder, p.37-48. In: Sandholm M., Buzalski T.H., Kaartinen L. & Pyorala S. (Eds), **The Bovine Udder and Mastitis**. Gummerus Kirjapaino, Helsinki. 312p. 1995.

SAUT, J. P. E.; BIRGEL JUNIOR, E. D. Influência do período pós-parto sobre o leucograma de fêmeas bovinas da raça holandesa. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 588-597, 2006.

SCHIMDT, E. M. S.; BARROS FILHO, I. R.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; CIFFONI, E. M. G.; MANGRICH-ROCHA, R. M. V. Proteinograma de cabras soropositivas e soronegativas para o vírus da artrite encefalite caprina. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.106, p. 152-153, 2007. Suplemento.

SCHILD, A. L. **Fotossensibilização hepatógena**. In: Doenças de ruminantes e equinos, Vol. 2. 2. ed. São Paulo: Varela. p. 177-180. 2006

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

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**, Edinburgh, v. 41, p. 645–653, 2009.

SHARMILA, C.; WILLIAMS, J. W.; REDDY, G. Effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on expression of interleukin-16 in goats. **American Journal of Veterinary Research**. v. 63, n. 10, p. 1418-1422. 2002.

SILVA, E. M. N.; SOUZA, B. B.; SILVA, G. A; CÉZAR, M. F.; BENÍCIO, T. M. Avaliação hematológica de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 32, p. 561-566, 2008.

SIMÃO, L. C. V.; SANTOS, R. C.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Alterações clínicas, hematológicas e da bioquímica clínica em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Archives of Veterinary Science**. Curitiba, v. 12, n. 86, p. 121-122. 2007. Suplemento.

SINGH, S. V; PACHAURI, S. P. Acute phase proteins in bovine mastitis. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v. 72, n. 1, p.20-22, 2002.

SKINNER, J. G. International standardization of acute phase proteins. Special Report. *Veterinary Clinical Pathology*. v. 30, n. 1, p. 02-07, 2001.

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

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

SMITH, K. L. e SCHANBACHER, F. L. Lactoferrin as a factor of resistance to infection of the bovine mammary gland. *Journal of American Veterinary Medical Association*. v. 170, p. 1224-1227. 1977.

SMITH, B. D. **Tratado de medicina interna de grandes animais**, Vol 1 e 2. 3. ed. São Paulo: Manole. 1738p. 2006.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. **Goat medicine**. 2. ed. Wiley-Blackwell, 2009. 636f.

SORENSSON, J.; MATEJKA, G. L.; OHLSON, M.; HARALDSSON, B. Human endothelial cells produce orosomucoid, an important component of the capillary barrier. **American Journal of Physiology and Heart or Circulatory Physiology**, v. 276, p. 530-534, 1999.

SOUZA, B. B.; SOUZA, E. D. S.; SILVA, R. M. N.; CEZAR, M. F.; SANTOS, J. S. S.; SILVA, G. A. Respostas fisiológicas de caprinos de diferentes grupos genéticos no semi-árido paraibano. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 32, p. 314-320, 2008.

SPOONER, R. L.; MILLER, J. K. The measurement of haemoglobin reactive protein in ruminants as an aid to the diagnosis of acute inflammation. **Veterinary Record**, London, n. 88, p. 2-4, 1971.

SUOJALA, L.; ORRO, T.; JÄRVINEN, H.; SAATSI, J.; PYÖRÄLÄ, S. Acute phase response in two consecutive experimentally induced *E. coli* intramammary infections in dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**. 2008. Disponível em:< <http://www.actavetscand.com/content/50/1/18>>. Acesso em : 17 jan 2011.

SVENSSON, C.; LIBERG, P.; HULTGREN, J. Evaluating the efficacy of serum Haptoglobin concentration as an indicator of respiratory-tract disease in dairy calves. **The Veterinary Journal**, London. doi:10.1016/j.tvjl.2006.07.009, 2006.

TABRIZI, A. D.; BATAVANI, R. A.; ASRI REZAEI, S.; AHMADI, M. Fibrinogen and ceruloplasmin in plasma and milk from dairy cows with subclinical and clinical mastitis. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 15, p. 571-576, 2008.

TAYLOR, J. A. Leucocyte responses in ruminants. In. FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. p. 391-404.

THEILGAARD-MONCH, K.; JACOBSEN, L. C.; RASMUSSEN, T.; NIEMANN, C. U.; UDBY, L.; BORUP, R.; GHARIB, M.; ARKWRIGHT, P. D.; GOMBAT, A. F.; CALAFAT, J.; PORSE, B. T.; BORREGAARD, N. Highly glycosylated alpha 1-acid glycoprotein is synthesized in myelocytes, stored in secondary granules, and released by activated neutrophils. **Journal of Leukocyte Biology**, New York, v. 78, p. 462-470, 2005.

THEODOROU, G.; DASKALOUPOULOU, M.; CHRONOPOULOU, R.; BALDI, A.; DELL'ORTO, V.; POLITIS, I. Acute mastitis induces upregulation of expression of plasminogen activator-related genes by blood monocytes and neutrophils in dairy ewes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 138, n. 1-2, p. 124-128, 2010.

THOMAS, J. S. Overview of plasma proteins. In. FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 891-898, 2010.

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

ULUTAS, P.A.; OZPINAR, A. Effect of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* infection on acute-phase proteins and some mineral levels in colostrum-breast milk-fed or colostrum-breast-milk-deprived sheep. **Veterinary Research Communications**, v. 30, p. 485-495, 2006.

VALLI VEO. Normal and benign reactive hematopoietic tissues. In: **Veterinary Comparative Hematopathology**. Ames : Blackwell. p. 103 – 104. 2007.

VAN LENTEN, B. J.; REDDY, S. T.; NAVAB, M.; FOGELMAN, A. M. Understanding changes in high density lipoproteins during the acute phase response. **Journal of the American Heart Association**, v. 26, p. 1687-1688, 2006.

YANG, F.; GHIO, A. G.; HERBERT, D. C.; WEAKER, F. J.; WALTER, C. A.; COALSON, J. J. Pulmonary expression of the human haptoglobin gene. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, New York, v. 23, n. 3, p. 277-282, 2000.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Wiley-Blackwell, 2010. 1206p.

WINTER, P.; MINY, M.; FUCHS, K.; BAUMGARTNER, W. The potential of measuring serum amyloid A in individual ewe milk and in farm bulk milk for monitoring udder health on sheep dairy farms **Research in Veterinary Science**, London, v. 81, p. 321-326, 2006.

APÊNDICE

SOLUÇÕES EMPREGADAS NA ELETROFORESE (SDS-PAGE)

GEL DE SEPARAÇÃO A 10%

- ✓ 11,9 mL de água deionizada
- ✓ 5,9 mL de Tris HCl 2 M, pH $8,8 \pm 0,1$
- ✓ 10,5 mL de Acrilamida/Bis (30% T / 1,87 C)
- ✓ 1,7 mL de glicerol
- ✓ 0,63 mL de EDTA 0,5 M, pH $8,3 \pm 0,1$
- ✓ 0,63 mL de lauril sulfato de sódio (SDS) a 10%
- ✓ 242 µL de persulfato de amônio a 10% (preparado no dia do uso)
- ✓ 27 µL de TEMED

GEL DE EMPILHAMENTO A 4%

- ✓ 3,95 mL de água deionizada
- ✓ 0,6 mL de Tris HCl 0,617 M, pH $6,8 \pm 0,1$
- ✓ 1 mL de Acrilamida/Bis (30% T / 1,87% C)
- ✓ 300 µL de glicerol
- ✓ 123 µL de EDTA 0,5 M, pH $8,3 \pm 0,1$
- ✓ 123 µL de lauril sulfato de sódio (SDS) a 10%
- ✓ 60 µL de persulfato de amônio a 10% (preparado no dia do uso)
- ✓ 13 µL de TEMED

TRIS HCl – 2 M – 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 100 mL com água deionizada.

Acertar para pH 6,8;

Filtrar a solução e guardar em geladeira.

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

Acrilamida 73,6g

N,N metileno bisacrilamida 1,4g

Completar para 250 mL com água deionizada;

Aquecer se necessário.

EDTA 0,5 M

(Etilenodinitrilo) ácido tetracético tetrassódico 19,01g

Completar para 100 mL com água deionizada.

Acertar para pH 8,3.

LAURIL SULFATO DE SÓDIO (SDS) 10%

Lauril sulfato de sódio 10,0g

Completar para 100 mL 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	5,0mL
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).	

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 (10X)

Trizma Base	63,2g
Glicina	39,9g
SDS	10,0g

Completar para 1.000 mL com água deionizada.

Obs: para o uso na corrida usar o tampão de corrida diluído.

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.

PBS – CÁLCIO FREE (TAMPÃO FOSFATO SALINA)

NaCl 2,0g

KCl 0,0625g

Na₂HPO₄12H₂O..... 0,2875g

KH₂PO₄ 0,050 g

Completar para 250 mL com água deionizada.

Ajustar pH para 7,2 – conservar em geladeira.