

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**REDUÇÃO DE VERMINOSE, PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE CORDEIROS
ALIMENTADOS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS NA RAÇÃO**

Cíntia Maria Battiston Loureiro

**Orientador: Prof. Dr. Américo Garcia da Silva Sobrinho
Co-orientador: Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia (Produção Animal).

**JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
Fevereiro de 2007**

L892r Loureiro, Cíntia Maria Battiston
Redução de verminose, parâmetros hematológicos e bioquímicos
de cordeiros alimentados com extrato de própolis na ração/ Cíntia
Maria Battiston Loureiro. -- Jaboticabal, 2007
xiii, 38 f. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007
Orientador: Américo Garcia da Silva Sobrinho
Banca examinadora: Lucimar Pontara Peres de Moura, Adjair
Antônio do Nascimento
Bibliografia

1. Ovinos. 2. Verminose. 3. Extrato de própolis. I. Título.
II. Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.3:616-078

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

CÍNTIA MARIA BATTISTON LOUREIRO – filha de Wanderley Loureiro e Maria Inês Battiston Loureiro, nascida em 2 de setembro de 1981, na cidade de Cravinhos (SP), ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal em fevereiro de 2000, graduando-se em dezembro de 2004. Em março de 2005, ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós -Graduação em Zootecnia (Produção Animal) desta Unidade Universitária . Defendeu sua dissertação em fevereiro de 2007 e em março do ano corrente, ingressará no curso de Doutorado pelo mesmo programa.

*“Se não der frutos, valeu a beleza das flores;
Se não der flores, valeu a sombra das folhas;
Se não der folhas, valeu a intenção da semente.”*

Henfil

A Deus, pelo dom da vida,
AGRADEÇO.

Aos meus pais, Wanderley e Maria Inês , e
Ao meu irmão Cláudio,
Por todo Amor, Apoio e Confiança,
DEDICO.

Aos animais, criaturas divinas,
Merecedoras de nosso respeito, admiração e carinho ,
OFEREÇO.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador,
Prof. Dr. Américo Garcia da Silva Sobrinho,
Pela oportunidade, confiança, amizade, paciência,
Pelos ensinamentos passados e carinho de sempre,
Meu Muito Obrigado.

AGRADEÇO...

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, por ter contribuído com a minha formação pessoal e profissional, pelo acolhimento e oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, representado pelo Prof. Dr. Renato Luís Furlan, pela atenção e oportunidade concedida.

À CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana, sempre simpático e atencioso, pela amizade, incentivo, carinho e ajuda em todos os momentos que precisei.

Aos Professores, Dr. Alexandre Amstalden Moraes Sampaio e Dr^a. Izabelle A. Molina de Almeida Teixeira, pela participação nas Bancas Examinadoras do Projeto e Qualificação, pelas sugestões valiosas e por sempre estarem dispostos a ajudar.

Aos membros da Banca de Defesa, Prof. Dr. Adjair Antônio do Nascimento e Prof^a. Dr^a. Lucimar Pontara Peres de Moura, pelo aceite do convite e pelas valiosas contribuições.

Ao Prof. Dr. José Jurandir Fagliari, pela autorização do uso do Laboratório de Apoio à Pesquisa, pela atenção, educação, carinho e auxílio sempre que precisei.

Ao amigo e Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis, pelo carinho, confiança depositada, atenção e oportunidade.

Aos secretários do Departamento de Zootecnia, Fieno e Araciara, pela atenção, amizade, carinho e aos "galhos quebrados", e à Dona Maria do Carmo, pelo carinho e simpatia.

Às secretárias da Seção de Pós-Graduação, pela atenção, orientação e auxílio em todos os momentos que precisei.

Aos funcionários da Biblioteca, pela atenção e auxílio, e em especial à Tieko, pelas palavras amigas, atenção, carinho e amizade.

Aos funcionários da UAD, Graça, Mara, Wilson e Adauto, pelo carinho e atenção que sempre me receberam.

Aos funcionários do Laboratório de Apoio à Pesquisa, Renata, Paulo e Cláudia, e à pós-graduanda Paola pelos ensinamentos, atenção, auxílio, amizade e pelos bons momentos vividos, e ao Eugênio, do Hospital Veterinário, pela atenção e simpatia.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal (LANA), em especial o Sr. Orlando pelo auxílio na realização das análises bromatológicas.

Ao amigo, João Luis Guariz, funcionário do Setor de Ovinocultura, pela amizade, dedicação, empenho e ajuda incansável de sempre. E aos funcionários do Setor de Caprinocultura, Juninho e Carlinhos, pela amizade e “galhos quebrados”.

À querida Izildinha e ao Anderson, do “Xérox da Izildinha” pela amizade, presteza, “galhos quebrados” e muitos bate-papos.

Aos ex-companheiros do Setor de Ovinocultura, Sandra Mari Yamamoto e Rafael Sílvio Bonilha Pinheiro, pela amizade, companheirismo, ensinamentos e pelos bons momentos vividos.

Aos novos companheiros do Setor de Ovinocultura, Henrique Leal Perez (K-dera) e Greicy Mitzi Moreno, pela amizade, companheirismo, ajuda inestimável e pelos momentos de descontração e alegria.

Aos estagiários da Unesp/Jaboticabal, Ricardo Campi (Negão), Rodrigo (Ramela) e Natália (Teimosa), da Unesp/Dracena Josimar Pascualoto e Rodolpho e da UniPinhal, Alexandre Balancini Júnior, pela dedicação, empenho e inestimável ajuda.

À amiga e querida, Carolina Buzullini, pela amizade, presteza, carinho, atenção, paciência e pelo auxílio incansável na realização dos opgs, e à Liliane

Cérdotes, pela amizade e ajuda na hora em que mais precisei e estava perdida.

Ao Alex Sandro Campos Maia, que mesmo distante, nunca me deixou na mão, pela ajuda e pelas palavras amigas na hora em que mais precisei.

À querida amiga, Edilaine Moretti, pela força, amizade, carinho, preocupação e atenção para comigo.

Ao meu querido amigo e irmão, André Gustavo Leão, essa pessoa iluminada, pela grande amizade, cumplicidade, paciência, atenção, companheirismo, carinho e pelas alegrias vividas e lágrimas compartilhadas.

À minha mais nova amiga-irmã, Maria Fernanda Queiroz, pelas palavras amigas e consoladoras, pelas boas gargalhadas dadas, pela amizade e carinho incondicional, pela preocupação e pelas apetitosas sessões de culinária.

Às minhas queridas amigas e companheiras, Eneida de Oliveira Almeida, pela torcida, força, carinho e preocupação, mesmo distante, e à Kátia V. P. Trovo (Katchá), pelos bons momentos e carinho.

Ao querido e iluminado amigo, Daniel de Souza Ferreira (Sassá), pela amizade, carinho, força, torcida atenção, preocupação e ajuda incondicional em todos os momentos, principalmente nas colheitas de sangue.

Aos meus amigos de Graduação distantes, Octávio Guilherme (Stêrko), Gustavo Figueiredo (Tô Loko) e Ricardo Chabariberi (Buda), pela torcida e carinho, e aos que estão por perto ainda, Vivian Maia (Xisp), Estella R. Jasnusckiewicz (Costela), Marcella de Toledo P. Roth (Curica), André Luís F. Lima (Murote), Bruno Biagioli (Faiado), Maria Eliane Vechetini (Durva), Pedro Henrique Watanabe (Ponto Um), pela força e amizade.

Aos queridos, Felipe Nogueira Domingues, Guilherme Venturini, Fernando (Uruguaio), Márcio Chinachi, Rafael, Rodrigo Vidal e Daniel Rume pela amizade, companheirismo, carinho, força e pelos bons momentos vividos; e por

permitirem que fizesse de suas casas, a minha casa. À Roberta Canesin, que sempre me recebeu com muito carinho e atenção, pela amizade e torcida.

Aos amigos, Cristian, Cesinha, Bruno e Petterson, pela estima e bons momentos vividos juntos.

Aos queridíssimos e calorosos, Josemir e Leonardo, pela amizade, carinho, torcida, atenção e por me ajudarem quando precisei.

Aos amigos, Samuel, Juciléia Aparecida de Moraes (Juci), Helenara, Henrique (Tanso), Juliana, Alexandre (Manga) e Paula, pelo carinho, atenção e torcida.

Aos alunos do Colégio Técnico Agrícola, pela ajuda diária na etapa de campo do experimento.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

REDUÇÃO DE VERMINOSE, PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS NA RAÇÃO

RESUMO - Avaliou-se o efeito do extrato de própolis na redução da verminose e sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos de 18 cordeiros Ile de France (nove machos não-castrados e nove fêmeas) dos 5 aos 15 kg de peso corporal, no desmame. Os animais foram distribuídos em três tratamentos, constituídos por dietas isoprotéicas e isoenergéticas, com adição ao concentrado de 0, 15 e 30 mg de extrato de própolis a 11%/kg de peso corporal. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida no tempo. Observou-se que a contagem de ovos por grama de fezes foi influenciada pelos diferentes tratamentos. Nos cordeiros estudados, a adição de 30 mg de extrato de própolis foi mais efetiva em reduzir o número de ovos tipo *Strongylida* por grama de fezes, do que a de 15 mg e a que não continha o extrato, indicando uma possível redução na ovoposição dos endoparasitos. As contagens globais de hemácias, neutrófilos bastonetes e monócitos, taxa de hemoglobina e o percentual de hematócrito apresentaram efeito para interação entre os tratamentos e as datas de observação. Não houve diferenças para as contagens de leucócitos, neutrófilos segmentados e linfócitos, já os eosinófilos variaram dentro do período de coleta. Em relação aos parâmetros bioquímicos analisados, o extrato de própolis não afetou as concentrações séricas de uréia, creatinina, albumina, bilirrubina direta e indireta, e plasmática de glicose. Já os níveis séricos de colesterol, proteínas totais e bilirrubina total diferiram entre os tratamentos. Com base nos resultados, conclui-se que a adição de extrato de própolis às rações dos cordeiros não provocou alterações importantes nos parâmetros hematológicos e bioquímicos, que indicassem reações adversas à sua administração, além de ser uma possível alternativa no controle da verminose em cordeiros.

Palavras-Chave: comedouros privativos, cordeiros, flavonóides, *Haemonchus contortus*, hemograma, perfil bioquímico, própolis, verminose.

REDUCTION OF WORMS, HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF LAMBS FED WITH EXTRACT OF PROPOLIS IN THE RATION

ABSTRACT - The effect of the propolis extract was evaluated in the reduction of the nematodes and on the hematological and biochemical parameters of 18 lambs Ile of France (nine no-castrated males and nine females) of the 5 to the 15 kg of corporal weight, in it weans them. The animals were distributed in three treatments, constituted by protein and energy concentration diets, with addition to the concentrate of 0, 15 and 30 mg of propolis extract to 11%/kg of corporal weight. The experimental delineation was entirely occurred in portion outline subdivided in the time. It was observed that the counting of eggs for gram of feces was influenced by the different treatments. In the studied lambs, the addition of 30 mg of extract of propolis was more effective in reducing the number of eggs type Strongylida for gram of feces, than the one of 15 mg and the one that didn't contain the extract, indicating a possible reduction in the eggs of the endoparasites. The global countings of the red cells, neutrophiles and monocytes, hemoglobin tax and the percentile of hematocrits presented effect for interaction among the treatments and the dates for observation. There were not differences for the leucocytes countings, segmented neutrophiles and lymphocytes, whereas the eosinophiles varied inside of the collection period. In relation to the analyzed biochemical parameters, the extract of propolis did n't affect the serum urea, creatinine, albumin, direct and indirect, and plasmatic bilirubin concentration of glucose. The serum levels of cholesterol, total proteins and total bilirubin differed among the treatments. On base in the results, I was ended th at the addition of extract of propolis to the rations of the lambs didn't provoke important alterations in the hematological and biochemical parameters, that they indicated adverse reactions to his/her administration, besides being a possible alternative in the control of the nematodes in lambs.

Key Words: creep feeding, biochemical profile, flavonoides, haemogram, *Haemonchus contortus*, lambs, propolis, worms.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1. Nematodiose.....	2
2.2. Parâmetros hematológicos e bioquímicos.....	3
2.3. Própolis	5
3. REFERÊNCIAS.....	7
CAPÍTULO 2 - EFICÁCIA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS NO CONTROLE DA VERMINOSE EM CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS	11
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1. Local.....	13
2.2. Animais, dietas e instalações	14
2.3. Pesagens.....	16
2.4. Colheita de fezes e contagem de ovos por grama de fezes (OPG)..	16
2.5. Análises estatísticas	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4. CONCLUSÕES.....	19
5. REFERÊNCIAS.....	19

CAPÍTULO 3 – PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS POR NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS ALIMENTADOS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS NA RAÇÃO	22
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1. Local	24
2.2. Animais, dietas e instalações	24
2.3. Colheita de sangue	26
2.4. Parâmetros hematológicos	27
2.5. Parâmetros bioquímicos.....	28
2.6. Análises estatísticas	29
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4. CONCLUSÕES.....	36
5. REFERÊNCIAS.....	36

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O rebanho ovino brasileiro é da ordem de 17,1 milhões, com a maior concentração na região Nordeste, com 10,1 milhões, seguida da Sul, Centro-Oeste, Norte e a região Sudeste com 678,9 mil com 60% do rebanho no estado de São Paulo (ANUALPEC, 2006). A ovinocultura nacional é promissora, pois o Brasil, embora possua uma grande lacuna no consumo interno de carne ovina, tem todos os atributos necessários para ser um grande exportador. Atualmente, cerca de 50% da carne ovina consumida oficialmente no país é importada do Uruguai, Argentina e Nova Zelândia (SIMPLÍCIO, 2001). Face às necessidades, perspectivas e tendências, incrementos na ovinocultura visando produzir carne de qualidade e em quantidade para suprir a procura, são importantes para o progresso dessa atividade.

A helmintose, um dos principais problemas da ovinocultura, se agrava durante a fase de cria. No final da gestação e durante a lactação, as ovelhas ficam mais susceptíveis às infecções parasitárias, contaminando os pastos com elevadas quantidades de ovos de helmintos, propiciando severas infecções precoces nos cordeiros. A baixa resistência em relação a os vermes gastrintestinais, causa transtornos metabólicos e diminui o consumo voluntário de alimentos, a capacidade de digerir e absorver os nutrientes, afetando o desempenho animal, além de ser uma das principais causas de mortalidade. Dineen, citado por SIQUEIRA (1996), citou que durante a lactação, estresse físico, baixos níveis nutricionais, houve diminuição no desenvolvimento da resistência imunológica de cordeiros (DONALD et al., 1986). Em virtude destas ocorrências, o controle da verminose e a suplementação alimentar dos ovinos na fase inicial de crescimento com a utilização de comedouros privativos (*creep feeding*) viabiliza o manejo alimentar, podendo-se auferir melhores resultados zootécnicos e econômicos.

Outro fator preocupante em relação às helmintoses é a resistência múltipla dos parasitos aos princípios ativos dos anti-helmínticos e o efeito residual dos compostos químicos nos produtos de origem animal. Assim a produção orgânica vem conquistando espaço na agropecuária, ao utilizar produtos alternativos, como os fitoterápicos e a própolis, que originam alimentos mais saudáveis e com maior valorização no mercado.

PRINCIPAL et al. (2002) administraram oralmente doses de 5, 10 e 15 mL de solução alcoólica de própolis a 3%, objetivando controlar a verminose em ovelhas e observaram que doses de 10 mL reduziram a infecção parasitária das mesmas. Outros estudos (HOLLANDS et al., 1984; HOLLANDS et al., 1988; MERESTA et al., 1989; LORI, 1990; LANGONI et al., 1998; PARK et al., 2000b; SILVA SOBRINHO et al., 2000) demonstraram as propriedades antifúngicas, bactericidas e bacteriostáticas, antiinflamatórias e cicatrizantes, atribuídas aos flavonóides, principais componentes da própolis (MAZZUCO, 1994; MATSUNO, 1996), necessitam de validação científica para a sua correta utilização.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Nematodiose

O parasitismo por nematódeos gastrintestinais provoca elevadas perdas econômicas em criação de ovinos (PINHEIRO et al., 2000). Geralmente as infecções parasitárias são mistas, ou seja, os ovinos são parasitados por diferentes espécies ao mesmo tempo, sendo que as mais importantes e comuns são: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides spp.*, *Cooperia spp.* e *Oesophagostomum columbianum* (AMARANTE et al., 1997). Dentre os nematódes supracitados, o *H. contortus*, parasito do abomaso, da família Trichostrongylidae, é o mais patogênico, responsável por diminuição da produtividade e elevada mortalidade dos animais, particularmente os jovens (AROSEMENA et al., 1998). Seus principais efeitos estão ligados ao hábito hematófago tanto das larvas quanto dos adultos, que além de se

alimentarem de sangue, inoculam uma substância anticoagulante que provoca hemorragia, gastrites e erosão na mucosa do abomaso, com conseqüente anemia (FORTES, 1993).

Cada parasita do gênero suga em torno de 0,08mL/dia de sangue (FREITAS, 1976), acarretando redução nas reservas de ferro e da eritropoiese associada à perda de proteína, diminuição no consumo voluntário de alimentos e alterações na utilização dos nutrientes da dieta, afetando os índices produtivos e reprodutivos . (BORBA, 1996).

O controle da helmintose é usualmente realizado com anti-helmínticos visando reduzir os níveis de infecção dos animais e a descontaminação das pastagens (CHARLES, 1989). O rápido aparecimento de resistência aos princípios ativos , alto custo dos tratamentos, resíduos alimentares e o impacto ambiental vem incentivando o uso de produtos alternativos como os fitoterápicos e a própolis (JACKSON et al.,1993; WALLER et al., 1995; HERD, 1996; PRINCIPAL et al., 2002).

2.2. Parâmetros hematológicos e bioquímicos

O sangue transporta nutrientes do trato digestório para os tecidos e os produtos finais do metabolismo das células para os órgãos de excreção, ajuda a regular a temperatura do corpo, mantém constante a concentração de água e eletrólitos nas células e ainda age na defesa contra microrganismos (SWENSON & REECE, 1996). É constituído de uma fração líquida – o plasma – no qual encontra-se em suspensão seus constituintes celulares: os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas (BACILA, 2003). Os eritrócitos possuem uma cromoproteína, a hemoglobina, um pigmento respiratório, responsável pelas trocas gasosas e que confere a cor vermelha do sangue. Os leucócitos constituem as células de defesa do organismo animal e as plaquetas estão envolvidas no processo de coagulação sangüínea (SWENSON & REECE, 1996; BACILA, 2003).

O plasma apresenta-se desde amarelo até incolor, dependendo da quantidade de bilirrubina e pigmentos homólogos, espécie animal e da dieta. Sua cor resulta principalmente da variação da concentração de bilirrubina, embora o caroteno e outros

pigmentos também contribuam para nuances plasmáticas. Para obter-se o plasma, o sangue total deve ser colhido em seringas ou tubos tipo “vacutainer” com anticoagulante, cujas células sangüíneas sedimentar-se-ão naturalmente ou sob a ação da centrifugação. Num animal adulto, o plasma contém em torno de 92% de água e 9% de sólidos, os quais são proteínas como albumina, globulinas e fibrinogênio, além de anticorpos, enzimas, hormônios, uréia, ácido úrico, creatina, creatinina, aminoácidos, glicose, lipídios, colesterol, eletrólitos, vitaminas, gases e minerais envolvidos na formação de ossos, constituição de proteínas e lipídios em músculos, órgãos, células sangüíneas, tecidos e enzimas, envolvidos na manutenção da pressão osmótica, equilíbrio ácido-base e irritabilidade de músculos e nervos (SWENSON & REECE, 1996).

Alguns valores hematológicos e de composição sangüínea são de uso constante, em especial para determinar o grau de alterações patológicas que podem ocorrer nas anemias ou em outras enfermidades (BACILA, 2003); e os constituintes do soro sangüíneo, têm sido bastante utilizados em estudos metabólicos para auxiliar no diagnóstico dos animais (DOORNENBAL et al., 1983) por fornecer informações a respeito da funcionalidade e do grau de lesão celular. CIARLINI et al. (2000) observaram que não havia relação entre a alta carga parasitária e concentrações séricas de pepsinogênio, no periparto em ovelhas Suffolk e Ideal, concluindo que o aumento da concentração sérica do pepsinogênio está relacionada com a resposta imune mais eficiente dos hospedeiros contra os nematódeos, após sua imunodepressão no periparto.

Carências nutricionais podem ser verificadas em determinados estados fisiológicos, pelos constituintes bioquímicos do sangue. PINHEIRO et al. (2002) ao determinarem os níveis séricos de proteína total, albumina, glicose, cálcio e fósforo, de ovelhas sem padrão racial definido em diferentes estados fisiológicos na época da seca no semi-árido nordestino, concluíram que durante a gestação e lactação, as ovelhas apresentam carência protéica e de cálcio, sendo necessária suplementação.

2.3. Própolis

É uma substância elaborada pelas abelhas a partir da colheita de resinas de plantas, cuja origem pode determinar a qualidade, atividade biológica e uso medicinal do produto (COUTO & COUTO, 2002).

A composição química da própolis em geral revela a existência de 55% de resinas e bálsamos, 30% de cera, 10% de óleos voláteis e 5% de pólen (SZEWCZACK & GODOY, 1987). De acordo com MERESTA & MERESTA (1983), TOTH (1985) e PARK et al. (2000a) a composição da própolis varia de acordo com a diversidade da flora apícola da região, período de colheita, clima, presença de ceras e modo de incorporação das diversas substâncias confeccionadas pelas abelhas. No Brasil, devido à diversidade da flora e tipos de clima, há própolis com diferentes propriedades biológicas.

Segundo PARK et al. (2000b), própolis com atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* pode não atuar sobre o *Streptococcus mutans*. O poder terapêutico da própolis varia com a qualidade da mesma, não havendo um método padrão para avaliar sua qualidade, que normalmente considera apenas os teores de flavonóides e quercetina (MATSUNO, 1996). O maior grupo de compostos isolados pertencem aos flavonóides, terpenos, ácido alfa acetoxi-betulenol, aldeídos e ácidos aromáticos com propriedades antifúngicas, vitaminas B₁, B₂, B₆ e E, ácido ascórbico, pantotênico e minerais (MAZZUCO, 1994).

LANGONI et al. (1998) utilizaram em testes *in vitro* a própolis na concentração de 5% e constataram 100% de inibição no crescimento de microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Prototheca zopfii*, *Corynebacterium bovis*, *Rhodococcus equi*, *Candida albicans*, *Geothricum candidum* e *Enterobacter aerogenes*; e para os demais microrganismos, como *Escherichia coli* (91%), *Streptococcus agalactiae* (90%), *Klebsiella pneumoniae* (87,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (85,7%) e *Salmonella sp* (81,3%) a inibição foi menor, mostrando ser a própolis mais efetiva para os gram-positivos. Em outro trabalho, MERESTA et al. (1989) ao tratarem vacas com mastite aguda usando própolis, obtiveram recuperação de 86,6% dos animais, com 100% de

recuperação quando causados por *Candida albicans* (levedura); 85% por *E. coli*; 91% por *Staphylococcus* e 84,3% por *Streptococcus*, concluindo ser a própolis efetiva na terapia da mastite causada por microrganismos resistentes a antibióticos.

SILVA SOBRINHO et al. (2000) testaram própolis nas formas de pasta e solução no tratamento curativo da pododermatite necrótica em ovinos e verificaram que a própolis em solução apresentou maior efeito curativo desta enfermidade em relação à pasta. LORI (1990) ao utilizar 10% de gel de própolis em testes *in vitro* contra dermatomicose bovina causada pelo fungo *Tricophyton verrucosum*, observou rápida recuperação do tecido afetado e em concentrações entre 5 a 10% de própolis não constatou crescimento fúngico.

Como agente anticoccidiano, HOLLANDS et al. (1984) administraram própolis oralmente (solução alcoólica de 95%) em coelhos e constataram redução na excreção de oocistos de *Eimeria sp.* Em outra ocasião, ao compararem coelhos infectados com *Eimeria magna* e *Eimeria perforans*, tratados com solução hidroalcoólica de própolis e sulfa, HOLLANDS et al. (1988) concluíram que os efeitos anticoccidianos da própolis foram superiores aos tratamentos com sulfa, sugerindo uma opção no tratamento da coccidiose.

PRINCIPAL et al. (2002) utilizaram doses de 5mL, 10mL e 15mL de solução alcoólica de própolis a 3%, comparando com solução alcoólica sem própolis (controle), no controle de helmintíases em ovelhas West African. Os produtos eram administrados via oral e a eficácia verificada por OPG. Os autores concluíram que a própolis reduziu a infecção parasitária das ovelhas, sendo a dose de 10mL mais eficaz para a espécie.

Com o objetivo de observar a atividade da própolis em animais, GARCIA et al. (2004) avaliaram o perfil bioquímico de coelhos, e concluíram que a adição da própolis em níveis de 0,3% de extrato seco, não provocou alterações bioquímicas séricas importantes que pudessem indicar reações adversas à sua administração, corroborando com SFORCIN (1996) que estudaram o perfil bioquímico de ratos, por meio da determinação das concentrações séricas de proteínas totais, glicose, uréia, creatinina, triacilgliceróis, colesterol e HDL-colesterol, bem como a atividade específica de transaminases (AST e ALT) e da desidrogenase láctica (LDH) e verificaram ausência de

alterações importantes nas variáveis estudadas, indicando que a própolis não apresentou efeitos colaterais.

O extrato alcoólico da própolis em camundongos sugeriu uma atividade moduladora sobre o sistema de defesa do hospedeiro, por ativação dos macrófagos (ORSI et al., 1998). GIURGEA et al. (1981) ao trabalharem com frangos recebendo doses de extrato de própolis, verificaram mudanças na concentração sanguínea do colesterol, atividade da transaminase, proteínas totais, aumento das gamaglobulinas e decréscimo de aminoácidos livres; estes dois últimos efeitos sugeriram que a própolis teve um efeito anabólico e estimulou a resposta imune.

3. REFERÊNCIAS

AMARANTE, A.F.T. et al. Host specificity of sheep and cattle nematodes in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 73, p. 89 - 104, 1997.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira – Suínos e Outros**. São Paulo: Argos. p. 301 - 304. 2006.

AROSEMENA, N.A.E. et al. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid area in Brazil. **Revista Medicina Veterinária**, Pernambuco, v. 150, p.11 - 14, 1998.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2ª edição. São Paulo: Robe Editorial. 583p. 2003.

BORBA, M.F.S. Efeitos do parasitismo gastrintestinal sobre o metabolismo do Hospedeiro. In: SILVA SOBRINHO, A.G. et al. **Nutrição de Ovinos**, Jaboticabal: FUNEP, 258p. 1996.

CHARLES, T.P. Seasonal prevalence of gastrointestinal nematodes of goats in Pernambuco State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 30, p. 335 - 343, 1989.

CIARLINI, P.C. et al. Serum pepsinogen concentration in Suffolk and Polwarth ewes at the end of gestation, during lactation and after weaning. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 9, n.1, p.17 - 21. 2000.

COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP. 191p. 2002.

DINEEN, J.K. Naturaleza y rol del control inmunológico en las helmintiasis gastrointestinales. In: DONALD, A.D.; SOUTHCOFF, W.H. **Epidemiología y control de los parásitos gastrointestinales de los ovinos**. Montevideo: Hemisferio Sur, p. 165 - 187, 1986.

DONALD, A.D.; SOUTHCOFF, W.H. **Epidemiología y control de los parásitos gastrointestinales de los ovinos**. Montevideo: Hemisferio Sur, 225p. 1986.

DOORNENBAL, H. et al. Studies on the performance, development and carcass composition of the growing pig: effects of sex, feeding regime and blood serum parameters. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v. 63, p. 977 - 984, 1983.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. Porto Alegre: Sulina, 606p. 1993.

FREITAS, M.G. **Helmintologia veterinária**. Belo Horizonte: Copiadora e Editora Rabelo & Brasil, 396p. 1976.

GARCIA, R.C. et al. Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 57 - 67, 2004.

GIURGEA, R. et al. Effects standardized propolis extracts on certain blood constituents in chickens. **Clujul Medical**, Bucarest, v. 54, n. 2, p. 151 - 154, 1981.

HERD, R. **Impactos ambientais associados aos compostos endectocidas. Controle dos nematóides gastrintestinais em ruminantes**. Editora T. Padilha. EMBRAPA-CINGL, Coronel Pacheco, p. 95 - 111, 1996.

HOLLANDS, I. et al. A acción del propóleo sobre la intensidad de parasitación en conejos afectados por *Eimeria intestinalis*. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, Havana, v.15, n. 2, p.157 - 163, 1984.

HOLLANDS, I. et al. Análisis comparativo entre la acción del propóleo, la sulfoquinoxalina y la sulfomotacina em conejos afectados por coccidioses. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, Havana, v. 19, n. 2, p. 99 - 104, 1988.

JACKSON, E. Anthelmintic resistance – the state of play. **British Veterinary Journal**, Londres, v. 149, p.123 - 127, 1993.

LANGONI, H. et al. Efeito microbiano *in vitro* da própolis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, p. 227 - 229, 1998.

LORI, G.A. Acción fungicida del propóleos em la dermatomycosis bovina. **Indústria Apícola**, Monte Morris, v. 1, n. 1, p. 38 - 43, 1990.

MATSUNO, T. Própolis, farmacologia e efeitos terapêuticos. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE PRÓPOLIS. 1., 1996, São Paulo, **Palestras...** São Paulo: ABP. p. 1 - 6, 1996.

MAZZUCO, H. **Utilização da própolis e álcool etílico no controle de *Salmonella* em rações avícolas.** 1994. p.98. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias e Pastagens). Escola Superior Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, 1994.

MERESTA, L.; MERESTA, T. Research *in vitro* antibacterial activity of propolis extracts. **Bolletín of the Veterinary Institute of Pulawy**, Pulawy, v. 26, n.1/4, p. 77 - 80, 1983.

MERESTA, L. et al. Treatment of mastitis ins cows using am extract of propolis. **Medycyna Weterynaryjna**, Warszawa, v. 45, n. 7, p. 392 - 395, 1989.

ORSI, O.R. et al. Ação imunomoduladora da própolis sobre o estado de ativação de macrófagos: Ensaio *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 20, 1998, Salvador, v.1, p.128, 1998.

PARK, Y.K. et al. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características fisicoquímica e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**, São Paulo, n. 56, p. 2 - 5, 2000a.

PARK, Y.K. et al. Determinação das atividades citotóxicas e anti-HIV dos extratos etanólicos de própolis coletadas em diferentes regiões do Brasil. **Mensagem Doce**, São Paulo, n. 56, p. 2 - 4, 2000b.

PINHEIRO, R.R. et al. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, p. 534 – 543, 2000.

PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A. Constituintes séricos em ovinos SRD sem raça definida no semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n. 2, 2002.

PRINCIPAL, J. et al. Eficacia del propoleo en el control de las helmintiasis de ovino s naturalmente infestados. **Revista Científica**, Zulia, v. 12, p. 604 - 607, 2002. (suplemento 2).

SFORCIN, J.M. **Efeito da sazonalidade sobre as propriedades imunomoduladora e antibacteriana da própolis e perfil bioquímico dos ratos** . 1996. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

SILVA SOBRINHO, A.G. et al. Efeito da própolis no tratamento curativo da pododermatite em ovinos. **Mensagem Doce**, São Paulo, n. 56, p. 20 - 23, 2000.

SIMPLÍCIO, A.A. A Caprino-ovinocultura na visão do agronegócio. **Revista CFMV**, n. 24, p. 15 - 18, 2001.

SIQUEIRA, E.R. Recria e terminação de cordeiros em confinamento. In: SILVA SOBRINHO, A.G. et al. **Nutrição de Ovinos**, Jaboticabal: FUNEP, 258p. 1996.

SZEWCZAK, E.H.; GODOY, G.F. Um estudo científico sobre a própolis. **Apicultura do Brasil**, Florianópolis, v. 1, n. 3, p. 28 - 29, 1987.

SWENSON, M.J.; REECE, W. O. **DUKES. Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 856p. 1996.

TOTH, G. Propolis: medicine or fraud? **American Bee Journal**, Hamilton, v. 125, n. 5, p. 337 - 338, 1985.

WALLER, P.J. et al. Anthelmintic resistance in nematodes parasites in sheep: learning from the Australian experience. **Veterinary Record**, Londres, v. 136, p. 411 - 413, 1995.

CAPÍTULO 2 - EFICÁCIA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS NO CONTROLE DA VERMINOSE EM CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS

RESUMO - Avaliou-se o efeito do extrato de própolis na redução da verminose de 18 cordeiros Ile de France (nove machos não-castrados e nove fêmeas) dos 5 aos 15 kg de peso corporal, no desmame. Os animais foram distribuídos em três tratamentos, constituídos por dietas isoprotéicas e isoenergéticas, com adição ao concentrado de 0, 15 e 30 mg de extrato de própolis a 11%/kg de peso corporal. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida no tempo, considerando como parcela principal o esquema fatorial 3X2 (três tratamentos e dois sexos) e como subparcelas as datas de observação. Observou-se que a contagem de ovos por grama de fezes foi influenciada pelos diferentes tratamentos. Nos cordeiros estudados, a adição de 30 mg de extrato de própolis foi mais efetiva em reduzir o número de ovos tipo *Strongylida* por grama de fezes, do que a de 15 mg e a que não continha o extrato, indicando uma possível redução na ovoposição dos endoparasitos. Concluiu-se que o uso da própolis pode ser uma alternativa no controle da verminose em cordeiros.

Palavras-Chave: cordeiros, eficácia, flavonóides, *Haemonchus contortus*, ovos por grama de fezes, própolis

1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura paulista está em franca expansão e passou por profundas mudanças na última década. Dentro desse contexto, ganhos em produtividade são imperativos e vitais para a sobrevivência, competitividade e viabilidade técnica e econômica da atividade (ALMEIDA JÚNIOR et al., 2004).

Segundo OWEN (1976), a maior velocidade de crescimento dos cordeiros ocorre entre a primeira e a vigésima semanas de vida, portanto a suplementação alimentar dos ovinos na fase de cria pode ser técnica e economicamente interessante (SILVA SOBRINHO, 2001). Para viabilizar o manejo dessa suplementação a utilização de comedouros seletivos (*creep feeding*) é uma valiosa ferramenta para a consecução de bons resultados zootécnicos e econômicos, permitindo abate precoce dos animais, com maior taxa de desfrute do rebanho ovino nacional (NERES et al., 2001).

A verminose é um dos fatores que afetam a viabilidade dos sistemas de produção de ovinos. Os nematódeos gastrintestinais provocam redução no consumo voluntário de alimentos e prejuízos à digestão e absorção de nutrientes, ocasionando redução no ganho de peso, sendo a principal causa de mortalidade no rebanho e de redução na produtividade.

Dentre os helmintos de maior importância na ovinocultura brasileira, destaca-se o *Haemonchus contortus*, endoparasito de maior prevalência no Estado de São Paulo (AMARANTE, 1995), parasita do abomaso de grande patogenicidade devido ao intenso hematofagismo por adultos e larvas, podendo ingerir 0,08 mL de sangue por dia (FORTES, 1993). Animais com altas cargas parasitárias apresentam hipoproteinemia, anemia aguda, caquexia, prostração, podendo levar os animais a óbito rapidamente.

Além das conseqüentes perdas econômicas decorrentes da verminose, seu controle por meio de produtos químicos convencionais tem resultado em problemas como o desenvolvimento acelerado da resistência ao princípio ativo e a preocupação da sociedade e de órgãos governamentais com os resíduos nos produtos de origem animal (CHAGAS, 2004). Dessa forma, os produtos orgânicos vêm conquistando espaço na

agropecuária, ao utilizar produtos alternativos, como os extratos vegetais e a própolis, que originam alimentos mais saudáveis e valoriza dos no mercado.

A vulnerabilidade dos produtos químicos diante da capacidade de sobrevivência dos parasitas, faz com que eles tenham tempo de uso pré-determinado, no entanto acredita-se que o uso de produtos naturais alternativos possa reduzir o desenvolvimento da resistência, além de atingirem somente a espécie alvo, serem biodegradáveis, não causarem poluição ambiental e diminuírem drasticamente o problema dos resíduos (CHAGAS, 2004).

Dentre esses produtos naturais, a própolis surge como uma alternativa, sendo já demonstradas suas propriedades antifúngicas, bactericidas e bacteriostáticas, antiinflamatórias e cicatrizantes (HOLLANDS et al., 1984; HOLLANDS et al., 1988; MERESTA et al., 1989; LORI, 1990; LANGONI et al., 1998; PARK et al., 2000; SILVA SOBRINHO et al., 2000) e parasitárias (PRINCIPAL et al., 2002), atribuídas aos flavonóides, principais componentes da própolis (MAZZUCO, 1994; MATSUNO, 1996). A resposta dos animais em termos de índices zootécnicos requer mais investigações necessárias para validar cientificamente o uso da própolis.

Em razão do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia do extrato de própolis no controle da verminose em cordeiros naturalmente infectados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local

Este experimento foi realizado no Setor de Ovinocultura, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal, SP.

2.2. Animais, tratamentos e instalações

Foram utilizados 18 cordeiros Ile de France (nove machos não castrados e nove fêmeas) dos 5 kg de peso corporal ao desmame (15 kg), identificados com marcação numérica na região lombar.

Os animais foram distribuídos em três tratamentos: Controle (T_0), sem adição de extrato de própolis a 11%; Tratamento 1 (T_1), adição de 15 mg de extrato de própolis a 11%/kg de peso corporal e Tratamento 2 (T_2), 30 mg de extrato de própolis a 11%/kg de peso corporal.

As dietas eram isoprotéicas e isoenergéticas e os concentrados formulados de acordo com o National Research Council (NRC,1985) e compostos por milho moído, farelo de soja, farelo de trigo, núcleo mineral, fosfato bicálcico, calcário e sal iodado.

O extrato de própolis era incorporado ao concentrado com o auxílio de misturador Y, por dez minutos. Ao concentrado do tratamento controle também foi adicionado solução alcoólica sem própolis, a fim de anular possíveis efeitos de álcool residual nas variáveis estudadas. Na Tabela 1, encontra-se as composições percentual e bromatológica dos concentrados.

Tabela 1. Composições percentual e bromatológica das rações experimentais, expressas em porcentagem da matéria seca (% MS).

Ingrediente	Dieta ¹		
	D1	D2	D3
Milho moído	54,60	54,60	54,60
Farelo de soja	24,50	24,50	24,50
Farelo de trigo	18,00	18,00	18,00
Núcleo mineral ²	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcico	0,10	0,10	0,10
Calcário	1,80	1,80	1,80
Sal iodado	0,50	0,50	0,50
Composição bromatológica			
Matéria seca (%)	90,06	90,70	90,85
Proteína bruta (%)	19,45	19,79	19,11
Matéria mineral (%)	4,20	4,82	4,98
Fibra em detergente neutro (%)	24,70	24,26	23,82
Fibra em detergente ácido (%)	6,11	5,66	5,21
Extrato etéreo (%)	2,65	2,77	3,03

¹ N₀= controle, sem adição de extrato de própolis; N₁ = adição de 15 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal; N₂ = adição de 30 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal.

O extrato de própolis a 11% foi cedido pela Apis Flora Indústria e Comércio Ltda, de Ribeirão Preto, SP, cujas análises físico-químicas e microbiológicas realizadas nos Laboratórios de Controle de Qualidade Físico e Químico (LAFIQ) e de Controle de Qualidade Microbiológico (LAMIC), conforme as especificações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), constam na Tabela 2.

Tabela 2. Análises físico-químicas e microbiológicas do extrato de própolis a 11%, conforme especificações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Característica físico-química	Resultado	Especificação
Aspecto	Conforme	Líquido límpido, sem partículas em suspensão.
Cor	Conforme	Âmbar
pH	5,39	5,00-5,50
Densidade relativa	0,921	0,910-0,930
Teor Alcoólico	56	56-64%
Propriedade Antioxidante	14	Máximo de 22 segundos
Sólidos solúveis	11,1	11,0 – 11,5% p/v
Flavonóides totais	6,03	Mínimo de 4,5 mg/mL
Característica microbiológica		
Bactérias	<100	Máximo 10 ³ UFC/mL
Fungos	<100	Máximo 10 ³ UFC/mL
<i>Aspergillus flavus</i>	Negativo	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Negativo	
<i>Bacillus cereus</i>	Negativo	
<i>Cândida albicans</i>	Negativo	
<i>Enterobacter sp</i>	Negativo	Negativo
<i>Enterococcus sp</i>	Negativo	
<i>Escherichia coli</i>	Negativo	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Negativo	
<i>Salmonella sp</i>	Negativo	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo	
Atividade antimicrobiana 10 mg/mL		
<i>Micrococcus luteus</i>	S++++	Sensível
<i>Staphylococcus aureus</i>	S++++	Sensível

Os cordeiros juntamente com suas mães permaneciam no pasto das 07h30min, às 16h, no pasto, quando eram recolhidos em instalações com piso ripado suspenso, em baias com comedouros privativos individuais (*creep feeding*) para acesso dos

cordeiros, equipados com comedouro e bebedouro. Os comedouros e bebedouros das ovelhas eram individuais, sem acesso dos cordeiros à ração das mesmas.

Os cordeiros recebiam os concentrados ao serem recolhidos do pasto, às 16h, com ajuste diário para permitir 20% de sobra, as quais eram recolhidas e pesadas para estimar o consumo individual de matéria seca.

2.3. Pesagens

Os animais foram pesados ao início do experimento e semanalmente, para avaliação do ganho de peso, até atingirem 15 kg de peso corporal, quando eram desmamados.

2.4. Colheita das fezes e contagem de ovos por grama de fezes (OPG)

As colheitas das fezes foram feitas no início do experimento e semanalmente até o desmame, diretamente da ampola retal, armazenadas em sacos plásticos estéreis e identificados, numa quantidade aproximada de 30 a 50 gramas, para contagem de ovos por gramas de fezes (OPG), a qual foi feita pelo método de McMaster segundo a técnica de GORDON & WHITLOCK (1939).

2.5. Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado na avaliação da redução da contagem de ovos por grama de fezes foi o inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida no tempo, considerando como parcela principal o esquema fatorial 3X2 (três tratamentos e dois sexos) e como subparcelas as datas de observação (cinco semanas) (BANZATO & KRONKA, 1989). Os dados foram analisados pelos procedimentos de análise de variância e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o Sistema de Análises Estatísticas (SAS, 1996) de acordo com o modelo matemático:

$Y_{ijklm} = \mu + T_i + S_j + TS_{ij} + a_{kij} + D_l + TD_{il} + SD_{jl} + e_{ijklm}$, onde

Y_{ijklm} é a m -ésima observação no k -ésimo animal do j -ésimo sexo submetido ao i -ésimo tratamento, avaliado no l -ésimo dia de coleta;

μ é a média geral;

T_i é o efeito fixo do i -ésimo tratamento ($i = 1, \dots, 3$);

S_j é o efeito fixo do j -ésimo sexo ($j = 1$ e 2);

TS_{ij} é o efeito da interação do i -ésimo tratamento com o j -ésimo sexo;

a_{kij} é o efeito do k -ésimo animal ($k = 1, \dots, 18$) dentro da interação do i -ésimo tratamento com o j -ésimo sexo;

D_l é o efeito fixo do l -ésimo dia de coleta ($l = 1, \dots, 5$);

TD_{il} é o efeito da interação do i -ésimo tratamento com o l -ésimo dia de coleta;

SD_{jl} é o efeito da interação do j -ésimo sexo com o l -ésimo dia de coleta e,

e_{ijklm} o efeito residual, que inclui todas as demais fontes de variações não consideradas no modelo, além do erro de determinação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 podem ser observadas as médias das contagens de ovos por grama de fezes (OPG) e dos consumos de matéria seca (CMS) e seus respectivos coeficientes de variação. Os valores aritméticos foram transformados em geométricos ($\log(x+1)$), para normalizar a resposta e homogeneizar as variâncias das dietas experimentais, haja vista ser a contagem de ovos uma variável muito instável.

Tabela 3. Teor de flavonóides totais, consumo diário de matéria seca (CMS), valores médios das contagens de ovos por grama de fezes (OPG) de cordeiros alimentados com extrato de própolis na ração e os respectivos coeficientes de variação.

Ração ¹	Teor de flavonóides (mg/mL)	CONSMS (kg/dia)	OPG
T ₀	0,00	0,365a	3,53a
T ₁	90,45	0,285b	3,09ab
T ₂	180,90	0,230b	3,06b
CV ² (%)	-	16,75	14,23

¹T₀= controle, sem adição de extrato de própolis; T₁ = adição de 15 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal; T₂ = adição de 30 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal.

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*significativo (P < 0,05).

²CV = coeficiente de variação.

Pode-se notar que o consumo de matéria seca do concentrado diferiu (P<0,05) quanto aos diferentes tratamentos. Sendo que o concentrado sem adição da própolis foi mais consumido (0,365 kg/dia) que os outros, que continham 15 e 30 mg de própolis (0,285 e 0,230 kg/dia, respectivamente) que não diferiram entre si. Apesar do consumo de matéria seca dos concentrados com adição de própolis terem sido menores, observa-se na mesma tabela que as contagens de ovos por grama de fezes foram reduzidas (P<0,05). O tratamento 2 com 30 mg de extrato de própolis foi mais efetivo em reduzir o número de ovos tipo de Strongylida por grama de fezes (3,06), do que o nível 1 com 15 mg de própolis (3,09) e o controle (3,53) nos cordeiros estudados, devido aos maiores teores de flavonóides nas rações com níveis maiores de própolis, demonstrando possível efeito do extrato de própolis em reduzir a ovoposição dos endoparasitos.

Esse efeito antiparasitário da própolis tem sido objeto de estudo de alguns autores. Resultados similares aos encontrados neste estudo, foram reportados por PRINCIPAL et al. (2002) ao testarem níveis de própolis no controle de helmintíases de ovelhas West African, utilizando doses de 5mL, 10mL e 15mL de solução alcoólica de própolis a 3%, comparando-as com solução alcoólica sem própolis (controle). Os produtos eram administrados via oral e a eficácia verificada por OPG. Os autores

concluíram que a própolis reduziu a infecção parasitária das ovelhas, sendo a dose de 10mL a mais eficaz para a espécie.

HOLLANDS et al. (1984) administrando própolis oralmente (solução alcoólica 95%) em coelhos, constataram redução na excreção de oocistos de *Eimeria sp.* Em outra ocasião, ao compararem coelhos infectados com *Eimeria magna* e *Eimeria perforans*, tratados com solução hidroalcoólica de própolis e sulfa, HOLLANDS et al. (1988) concluíram que os efeitos anticoccidianos da própolis foram superiores aos tratamentos com sulfa, sugerindo-a como opção no tratamento da coccidiose.

4. CONCLUSÕES

A adição de 30mg de extrato de própolis à ração foi mais efetiva em reduzir o número de ovos por gramas de fezes, demonstrando seu efeito antiparasitário e a possibilidade de uso alternativo no controle da verminose ovina.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA JÚNIOR, G.A. et al. Desempenho, características da carcaça e resultados econômicos de cordeiros criados em *creep feeding* com silagem de grãos úmidos de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 1048 - 1059, 2004.

AMARANTE, A.F.T. Atualidades no controle de endoparasitoses ovinas. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINO CULTURA, 4, 1995, Campinas. **Anais...** Campinas: CATI/SAA, p. 33 - 49, 1995.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989.

CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13, 2004, Ouro Preto. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 13 p. 156 - 160, 2004. (suplemento 1).

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. Porto Alegre: Sulina, 606p. 1993.

GORDON, H.M.; WHITLOCK, A.V. A nem technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, p. 50 - 52, 1939.

HOLLANDS, I. et al. A acción del propóleo sobre la intensidad de parasitacion en conejos afectados por *Eimeria intestinalis*. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, Havana, v.15, n.2, p.157-163, 1984.

HOLLANDS, I. et al. Análises comparativo entre la acción del propóleo, la sulfoquinoxalina y la sulfomotacina em conejos afectados por coccidioses. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, Havana, v. 19, n. 2, p. 99 - 104, 1988.

LANGONI, H. et al. Efeito microbiano *in vitro* da própolis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, p. 227 - 229, 1998.

LORI, G.A. Acción fungicida del propóleos em la dermatomicoses bovina. **Indústria Apícola**, Monte Morris, v. 1, n. 1, p. 38 - 43, 1990.

MATSUNO, T. Própolis, farmacologia e efeitos terapêuticos. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE PRÓPOLIS. 1., 1996, São Paulo, **Palestras...** São Paulo: ABP. p.1 - 6, 1996.

MAZZUCO, H. **Utilização da própolis e álcool etílico no controle de *Salmonella* em rações avícolas**. 1994. p.98. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias e Pastagens). Escola Superior Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, 1994.

MERESTA, L. et al. Treatment of mastitis ins cows using am extract of propolis. **Medycyna Weterynaryjna**, Warszawa, v. 45, n. 7, p. 392 - 395, 1989.

NERES, M.A. et al. Níveis de feno de alfafa e forma física da ração no desempenho de cordeiros em *creep-feeding*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 941 - 947, 2001

NRC - Nacional Research Concil. **Nutrient requirements of sheep**. Washington, D.C.: National Academy Press, 99p. 1985.

OWEN, J.B. **Sheep production**. London: Bailliere Tindall, 436p. 1976.

PARK, Y.K. et al. Determinação das atividades citotóxicas e anti-HIV dos extratos etanólicos de própolis coletadas em diferentes regiões do Brasil. **Mensagem Doce**, São Paulo, n. 56, p. 2 - 4, 2000.

PRINCIPAL, J. et al. Eficacia del propóleo en el control de las helmintiasis de ovinos naturalmente infestados. **Revista Científica**, v.12, p. 604 - 607, 2002. (suplemento 2).

SAS - Statistical Analysis Systems. 1996. **User's Guide**. North Caroline: SAS Institute Inc., 1996.

SILVA SOBRINHO, A.G. et al. Efeito da própolis no tratamento curativo da pododermatite em ovinos. **Mensagem Doce**, São Paulo, n. 56, p. 20 – 23, 2000.

SILVA SOBRINHO, A.G. Aspectos quantitativos e qualitativos da produção de carne ovina. In: A produção animal na visão dos brasileiros. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 425 – 446, 2001.

CAPÍTULO 3 - PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS POR NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS ALIMENTADOS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS NA RAÇÃO

RESUMO - Avaliou-se o efeito do extrato de própolis sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos, como forma de detectar uma possível ação tóxica do mesmo, de 18 cordeiros Ile de France (nove machos não-castrados e nove fêmeas) dos 5 aos 15 kg de peso corporal. Os animais foram distribuídos em três tratamentos, constituídos por dietas isoprotéicas e isoenergéticas, com adição ao concentrado de 0, 15 e 30 mg de extrato de própolis a 11%/kg de peso corporal. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema de parcela subdividida no tempo, considerando como parcela principal o esquema fatorial 3X2 (três tratamentos e dois sexos) e como subparcelas as datas de observação. As contagens globais de hemácias, neutrófilos bastonetes e monócitos, taxa de hemoglobina e o percentual de hematócrito apresentaram efeito para interação entre os tratamentos e as datas de observação. Não houve diferenças para as contagens de leucócitos, neutrófilos segmentados e linfócitos, já os eosinófilos variaram dentro do período de coleta. Em relação aos parâmetros bioquímicos analisados, o extrato de própolis não afetou as concentrações séricas de uréia, creatinina, albumina, bilirrubina direta e indireta, e plasmática de glicose. Já os níveis séricos de proteínas totais e bilirrubina total diferiram entre os tratamentos. Com base nos resultados, concluiu-se que a adição de extrato de própolis às rações dos cordeiros não provocou alterações importantes nos parâmetros hematológicos e bioquímicos, que indicassem reações adversas à sua administração, além de ser uma possível alternativa no controle da verminose em cordeiros.

Palavras-Chave: comedouros privativos, cordeiros, flavonóides, hemograma, níveis de própolis, perfil bioquímico.

1. INTRODUÇÃO

Alguns valores hematológicos e de composição sangüínea são de uso constante, em especial para determinar o grau de alterações patológicas que podem ocorrer nas anemias ou em outras enfermidades (BACILA, 2003); e os constituintes do soro sangüíneo, têm sido bastante utilizados em estudos metabólicos para auxiliar no diagnóstico dos animais (DOORNENBAL et al., 1983) por fornecer informações a respeito da funcionalidade e do grau de lesão celular. CIARLINI et al. (2000) observaram que não havia relação entre a alta carga parasitária e concentrações séricas de pepsinogênio, no periparto em ovelhas Suffolk e Ideal, concluindo que o aumento da concentração sérica do pepsinogênio está relacionada com a resposta imune mais eficiente dos hospedeiros contra os nematódeos, após sua imunodepressão no periparto. Carências nutricionais podem ser verificadas em determinados estados fisiológicos, através dos constituintes bioquímicos do sangue, PINHEIRO et al. (2002) determinando os níveis séricos de proteína total, albumina, glicose, cálcio e fósforo, de ovelhas sem raça definida em diferentes estados fisiológicos na época da seca no semi-árido nordestino e concluíram que durante a gestação e lactação, as ovelhas apresentam uma carência protéica e de cálcio, sendo necessária uma suplementação.

A própolis, substância elaborada pelas abelhas a partir da colheita de resina de plantas tem sido empregada na preparação de medicamentos em várias partes do mundo. Muitos estudos já demonstraram suas propriedades antifúngicas, bactericidas e bacteriostáticas, antiinflamatórias e cicatrizantes, entretanto alguns autores têm relatado respostas exageradas ou inapropriadas do sistema imunológico frente à administração da própolis (GARCIA et al., 2004). Outros pesquisadores não observaram reações alérgicas ou sinais clínicos de intoxicação. SFORCIN (1996) ao estudar o perfil bioquímico de ratos, por meio da determinação das concentrações séricas de proteínas totais, glicose, uréia, creatinina, triacilgliceróis, colesterol e HDL-colesterol, bem como a atividade específica de transaminases (AST e ALT) e da desidrogenase láctica (LDH), não observou alterações importantes nas variáveis estudadas, indicando que a própolis não apresentou efeitos colaterais, corroborando com GARCIA et al. (2004) que também

avaliaram o perfil bioquímico de coelhos, e concluíram que a adição de própolis em níveis de 0,03% de extrato seco, não provocou alterações bioquímicas séricas importantes que pudessem indicar reações adversas à sua administração.

Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de cordeiros recebendo diferentes níveis de extrato de própolis, como forma de detectar alguma possível ação tóxica da mesma.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local

Este experimento foi realizado no Laboratório de Apoio à Pesquisa, pertencente ao Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal, SP.

2.2. Animais, níveis de própolis e instalações

Foram utilizados 18 cordeiros Ile de France (nove machos não castrados e nove fêmeas) dos 5 kg de peso corporal ao desmame (15 kg), identificados com marcação numérica na região lombar.

Os animais foram distribuídos em três tratamentos: Controle (T_0), sem adição de extrato de própolis a 11%; Tratamento 1 (T_1), adição de 15 mg de extrato de própolis a 11%/kg de peso corporal e Tratamento 2 (T_2), 30 mg de extrato de própolis a 11%/kg de peso corporal.

As dietas eram isoprotéicas e isoenergéticas e os concentrados formulados de acordo com o National Research Council (NRC,1985) e compostos por milho moído, farelo de soja, farelo de trigo, núcleo mineral, fosfato bicálcico, calcário e sal iodado.

O extrato de própolis era incorporado ao concentrado com o auxílio de misturador Y, por dez minutos. Ao concentrado do tratamento controle também foi

adicionado solução alcoólica sem própolis, a fim de anular possíveis efeitos de álcool residual nas variáveis estudadas. Na Tabela 1, encontra-se as composições percentual e bromatológica dos concentrados.

Tabela 1. Composições percentual e bromatológica das rações experimentais, expressas em porcentagem da matéria seca (% MS).

Ingrediente	Dieta ¹		
	D1	D2	D3
Milho moído	54,60	54,60	54,60
Farelo de soja	24,50	24,50	24,50
Farelo de trigo	18,00	18,00	18,00
Núcleo mineral ²	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcico	0,10	0,10	0,10
Calcário	1,80	1,80	1,80
Sal iodado	0,50	0,50	0,50
Composição bromatológica	Dieta ¹		
	D1	D2	D3
Matéria seca (%)	90,06	90,70	90,85
Proteína bruta (%)	19,45	19,79	19,11
Matéria mineral (%)	4,20	4,82	4,98
Fibra em detergente neutro (%)	24,70	24,26	23,82
Fibra em detergente ácido (%)	6,11	5,66	5,21
Extrato etéreo (%)	2,65	2,77	3,03

¹ N₀= controle, sem adição de extrato de própolis; N₁ = adição de 15 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal; N₂ = adição de 30 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal.

O extrato de própolis a 11% foi cedido pela Apis Flora Indústria e Comércio Ltda, de Ribeirão Preto, SP, cujas análises físico-químicas e microbiológicas realizadas nos Laboratórios de Controle de Qualidade Físico e Químico (LAFIQ) e de Controle de Qualidade Microbiológico (LAMIC), conforme as especificações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), constam na Tabela 2.

Os cordeiros juntamente com suas mães permaneciam no pasto das 07h30min, às 16h, no pasto, quando eram recolhidos em instalações com piso ripado suspenso, em baias com comedouros privativos individuais (*creep feeding*) para acesso dos cordeiros, equipados com comedouro e bebedouro. Os comedouros e bebedouros das ovelhas eram individuais, sem acesso dos cordeiros à ração das mesmas.

Os cordeiros recebiam os concentrados ao serem recolhidos do pasto, às 16h, com ajuste diário para permitir 20% de sobra, as quais eram recolhidas e pesadas para estimar o consumo individual de matéria seca.

Tabela 2. Análises físico-químicas e microbiológicas do extrato de própolis a 11%, conforme especificações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Característica físico-química	Resultado	Especificação
Aspecto	Conforme	Líquido límpido, sem partículas em suspensão.
Cor	Conforme	Âmbar
pH	5,39	5,00-5,50
Densidade relativa	0,921	0,910-0,930
Teor Alcoólico	56	56-64%
Propriedade Antioxidante	14	Máximo de 22 segundos
Sólidos solúveis	11,1	11,0 – 11,5% p/v
Flavonóides totais	6,03	Mínimo de 4,5 mg/mL
Característica microbiológica		
Bactérias	<100	Máximo 10 ³ UFC/mL
Fungos	<100	Máximo 10 ³ UFC/mL
<i>Aspergillus flavus</i>	Negativo	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Negativo	
<i>Bacillus cereus</i>	Negativo	
<i>Cândida albicans</i>	Negativo	
<i>Enterobacter sp</i>	Negativo	Negativo
<i>Enterococcus sp</i>	Negativo	
<i>Escherichia coli</i>	Negativo	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Negativo	
<i>Salmonella sp</i>	Negativo	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo	
Atividade antimicrobiana 10 mg/mL		
<i>Micrococcus luteus</i>	S++++	Sensível
<i>Staphylococcus aureus</i>	S++++	Sensível

2.3. Colheita de sangue

As colheitas de sangue foram realizadas ao início do experimento, quinzenalmente, e quando os animais foram desmamados, ao atingirem 15 kg de peso corporal.

As amostras de 15 mL de sangue foram obtidas por venipuntura jugular, utilizando-se agulhas e seringas descartáveis e aliquotadas em frações de 3 mL com anticoagulante (ácido etilenodiaminotetracético dissódico - EDTA a 10%) para confecção dos esfregaços e realização do hemograma, os outros 3 mL de sangue, com anticoagulante fluoretado, foram utilizados para dosagem de glicose, e os 9 mL

restantes, sem anticoagulante, para obtenção do soro e posteriores análises bioquímico-séricas.

As amostras destinadas à dosagem de glicose foram centrifugadas imediatamente após as colheitas, e aquelas destinadas à obtenção do soro, até 30 minutos após a colheita, sendo submetidas a 5000 rpm durante 10 minutos e o soro sobrenadante recolhido em recipientes adequados, estocados e congelados à temperatura de -20°C.

2.4. Parâmetros hematológicos

A taxa de hemoglobina e as contagens globais de hemácias e leucócitos foram obtidas com o auxílio do Contador Automático de Células Sangüíneas – CC-530 - CELM[®], com emprego de solução diluidora CELMVET[®]. Os esfregaços destinados às contagens diferenciais dos leucócitos foram fixados ao ar e corados em solução de May-Grunwald/Giemsa - MGG (MATOS & MATOS, 1988).

O volume globular (VG) ou hematócrito (Ht) médio foi obtido pela técnica do microhematócrito, cujos capilares foram preenchidos com amostras de sangue e centrifugados a 11000 rpm, por cinco minutos, procedendo-se posteriormente a leitura do volume globular ou hematócrito, contrastando o tubo capilar a um cartão padronizado, cuja escala indica a porcentagem de eritrócitos em relação ao volume sangüíneo total (VALLADA, 2002).

Para discussão dos resultados serão utilizados como referência os valores citados por GARCIA-NAVARRO (2005) que definem como normal os valores que são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores hematológicos de ovinos.

Série vermelha	Valor
Hemoglobina (g/dl)	9,0 – 15,0
Hematócrito (%)	25 - 45
Hemácias ($10^6/\mu\text{l}$)	9,0 -15,0
Série Branca	
Leucócitos ($/\mu\text{l}$)	4000 – 12000
Neutrófilos	
segmentados ($/\mu\text{l}$)	700 – 6000
bastonetes ($/\mu\text{l}$)	raros
Linfócitos ($/\mu\text{l}$)	2000 - 9000
Monócitos ($/\mu\text{l}$)	0 – 750
Eosinófilos ($/\mu\text{l}$)	0 – 1000
Basófilos ($/\mu\text{l}$)	raros

Adaptado de GARCIA-NAVARRO (2005).

2.5. Parâmetros bioquímicos

As análises bioquímicas foram realizadas dois meses após a colheita e estocagem do soro. Foram determinadas as concentrações séricas de albumina (método do verde de bromocresol), proteínas totais (método do biureto), creatinina (método de Lustosa-Basques), bilirrubina direta e total (método de Sims-Horn), uréia (método enzimático UV), e plasmática de glicose (método GOD-Trinder) mediante utilização de kits laboratoriais de uso comercial LABTEST[®]. As leituras das amostras foram realizadas por espectrofotometria (espectrofotômetro semi-automático LABQUEST[®]), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste. A bilirrubina indireta foi obtida pela diferença entre as concentrações de bilirrubina total e direta.

Para discussão dos dados, considerou-se os resultados bioquímicos-séricos de referência reportados por BLOOD & RADOSTITS (1991) e assim estipulados: creatinina de 1,2 - 1,9 mg/dL, uréia de 8 – 2 mg/dL, proteínas totais de 6 - 7,9 g/dL, albumina de 2,4 - 3 g/dL, bilirrubina direta de 0 – 0,27 mg/dL, indireta de 0,0 – 0,12 mg/dL e total de 0,01 – 0,5 mg/dL, e plasmáticos de glicose de 50 - 80 mg/dL.

2.6. Análises estatísticas

Para os resultados das análises dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida no tempo, considerando como parcela principal o esquema fatorial 3X2 (três tratamentos e dois sexos) e como subparcelas as datas de observação (BANZATO & KRONKA, 1989). Os dados foram analisados pelos procedimentos de análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas (SAS, 1996), de acordo com o modelo matemático:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + S_j + TS_{ij} + a_{kij} + D_l + TD_{il} + SD_{jl} + e_{ijklm}, \text{ onde}$$

Y_{ijklm} é a m -ésima observação no k -ésimo animal do j -ésimo sexo submetido ao i -ésimo tratamento, avaliado no l -ésimo dia de coleta;

μ é a média geral;

T_i é o efeito fixo do i -ésimo tratamento ($i = 1, \dots, 3$);

S_j é o efeito fixo do j -ésimo sexo ($j = 1$ e 2);

TS_{ij} é o efeito da interação do i -ésimo tratamento com o j -ésimo sexo;

a_{kij} é o efeito do k -ésimo animal ($k = 1, \dots, 18$) dentro da interação do i -ésimo tratamento com o j -ésimo sexo;

D_l é o efeito fixo do l -ésimo dia de coleta ($l = 1, \dots, 5$);

TD_{il} é o efeito da interação do i -ésimo tratamento com o l -ésimo dia de coleta;

SD_{jl} é o efeito da interação do j -ésimo sexo com o l -ésimo dia de coleta e,

e_{ijklm} o efeito residual, que inclui todas as demais fontes de variações não consideradas no modelo, além do erro de determinação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios e os coeficientes de variação para as contagens de hemácias (He), concentração de hemoglobina (Hb) e

porcentagem de hematócrito (Ht). As variáveis He, Hb e Ht apresentaram efeito de interação quando confrontados os tratamentos e as datas de observação ($P < 0,05$).

Pode ser notado que as médias das contagens das hemácias dos cordeiros que receberam o nível mais alto de extrato de própolis se mantiveram dentro da faixa de normalidade (GARCIA-NAVARRO, 2005), ao contrário daqueles submetidos aos demais tratamentos que, com o passar do tempo, tiveram seus valores reduzidos e inferiores aos de referência. A concentração de hemoglobina do sangue dos cordeiros que receberam os três tratamentos reduziu com o passar dos dias de observação. Embora abaixo dos valores considerados normais, a concentração de hemoglobina dos cordeiros que receberam 30 mg de extrato de própolis na ração foi superior àquela dos cordeiros submetidos aos demais tratamentos.

Tabela 4. Valores médios e coeficientes de variação para hemácias, hemoglobina e hematócrito de cordeiros alimentados com extrato de própolis na ração.

Dia de Observação	Ração ¹			CV ² (%)
	T ₀	T ₁	T ₂	
	Hemácias, 10 ³ /μL			13,03
1	10171,66 abc	10908,33abc	11148,53ab	
2	7626,66cd	11755,00a	9341,66abcd	
3	8193,33bcd	10420,00abc	10156,66abc	
4	8363,33abcd	9278,33abcd	9683,33abcd	
5	8804,70bcd	6298,33d	9160,00abcd	
	Hemoglobina, g/dL			10,36
1	8,48abc	9,31a	9,10ab	
2	6,46c	9,30a	8,03abc	
3	7,10bc	7,95abc	8,46abc	
4	7,16bc	7,30abc	7,90abc	
5	6,84c	7,27abc	7,60abc	
	Hematócrito, %			9,38
1	36,00abcd	40,33a	39,83a	
2	27,83d	39,00abc	34,16abcd	
3	30,16d	33,66 abcd	35,33abcd	
4	31,00cd	31,66bcd	33,30abcd	
5	30,61cd	32,75abcd	31,50bcd	

¹T₀= controle, sem adição de extrato de própolis; T₁ = adição de 15 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal; T₂ = adição de 30 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal.

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas e nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*significativo ($P < 0,05$).

²CV = Coeficiente de variação.

O hematócrito ou volume globular expressa a porcentagem de massa eritrocitária de uma amostra de sangue periférico, podendo juntamente com a contagem global de hemácias e taxa de hemoglobina, ser utilizado para identificação de um estado anêmico. O hematócrito ou volume globular dos cordeiros que receberam os três tratamentos situou-se dentro dos valores de referência para espécie (GARCIA-NAVARRO, 2005).

Na Tabela 5, constam as contagens dos leucócitos (LEU), neutrófilos bastonetes (BAST), neutrófilos segmentados (SEG), linfócitos (LINF) e monócitos (MON).

Para as contagens de leucócitos, não houve efeito significativo ($P > 0,05$) para a interação entre os tratamentos e as datas de observação. As médias das contagens dos cordeiros submetidos aos três tratamentos podem ser consideradas normais para espécie, que varia de 4000 a 12000 leucócitos/ μL de sangue. Os leucócitos atuam em processos de defesa inespecífica e específica do organismo (GARCIA-NAVARRO, 2005).

Os neutrófilos bastonetes são células jovens que possuem o núcleo ainda em forma de bastão, não segmentado, e por isso recebem esse nome (GARCIA-NAVARRO, 2005). São raros em ovinos, como confirmado neste ensaio, porém houve efeito de interação dos tratamentos e data de observação ($P < 0,05$).

Para as contagens de neutrófilos segmentados e linfócitos não se observaram diferenças ($P > 0,05$), enquanto para os monócitos houve efeito da interação tratamento e data de observação ($P < 0,05$), embora os mesmos se encontrem dentro da normalidade (Tabela 5). Os segmentados são neutrófilos adultos, cujo núcleo é formado por vários lóbulos unidos por filamentos de cromatina. Os linfócitos são as células da série branca, formadas na medula óssea e nos órgãos linfáticos e os monócitos são formados na medula óssea e classificados assim por serem mononucleares (GARCIA-NAVARRO, 2005). As contagens de neutrófilos bastonetes apresentaram interação entre tratamento e datas de observação e mostraram-se dentro das variações fisiológicas, não evidenciando processos inflamatórios ou imunológicos.

Tabela 5. Valores médios e coeficientes de variação para leucócitos, bastonetes, segmentados, linfócitos e monócitos de cordeiros alimentados com extrato de própolis na ração.

Data de observação	Ração ¹			CV ² (%)
	T ₀	T ₁	T ₂	
	Leucócitos/ μ L			26,21
1	6983,33a	7433,33a	6500,00a	
2	6700,00a	8766,66a	6266,66a	
3	6250,00a	6433,33a	7000,00a	
4	6683,33a	7033,33a	6391,66a	
5	6145,89a	7200,00a	5950,00a	
	Bastonetes/ μ L			365,3
1	0,16ab	0,00b	0,00b	
2	0,00b	0,50a	0,00b	
3	0,00b	0,00b	0,16ab	
4	0,00b	0,00b	0,00b	
5	0,00b	0,00b	0,00b	
	Segmentados/ μ L			40,01
1	25,66a	21,33a	27,50a	
2	25,66a	37,00a	35,00a	
3	31,16a	47,50a	22,50a	
4	31,00a	35,14a	27,83a	
5	26,96a	32,00a	36,50a	
	Linfócitos / μ L			18,06
1	74,00a	76,66a	72,33a	
2	74,00a	61,16a	92,83a	
3	68,16a	52,50a	76,50a	
4	68,16a	64,00a	71,16a	
5	71,22a	65,50a	62,50a	
	Monócitos/ μ L			89,23
1	0,16bc	1,00abc	0,00c	
2	0,00c	1,00abc	1,83a	
3	0,33bc	0,00c	0,00c	
4	0,83abc	0,50bc	0,00c	
5	0,63abc	2,25ab	0,00c	

¹T₀= controle, sem adição de extrato de própolis; T₁ = adição de 15 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal; T₂ = adição de 30 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal.

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas e nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*significativo (P < 0,05).

²CV = Coeficiente de variação.

Na Tabela 6 constam os valores médios dos eosinófilos, que foram influenciados de acordo com o dia de observação (P<0,05), ou seja, variaram nos diferentes momentos de coleta de sangue. Os eosinófilos são assim chamados em razão de apresentarem grânulos intracitoplasmáticos acidofílicos, sob a ação de corantes apresentam coloração amarela-laranja, também atuam em processos inflamatórios e de hipersensibilização do organismo. As médias das suas contagem estão dentro da faixa

de referência (0 - 1000/ μ L), considerada normal por GARCIA-NAVARRO (2005), indicando que a própolis não causou reações de sensibilidade nos cordeiros que receberam níveis de própolis nas rações.

Tabela 6. Médias de contagem de eosinófilos (EOS) de cordeiros alimentados com extra to de própolis na ração.

Dia de observação	Eosinófilos/ μ L
1	0,05b
2	0,16ab
3	0,05b
4	0,00b
5	0,00a

Médias seguidas por letras diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*significativo ($P < 0,05$).

Os basófilos são raros no sangue da espécie ovina (GARCIA -NAVARRO, 2005), e sua contagem foi nula nas amostras de sangue dos cordeiros submetidos aos três tratamentos.

As médias e os coeficientes de variação das concentrações séricas de uréia, creatinina, proteínas totais, albumina, bilirrubina total, direta e indireta, e plasmática de glicose podem ser visualizados na Tabela 7.

As concentrações séricas de creatinina e uréia são consideradas importantes indicadores da função renal, por meio da excreção do nitrogênio (FINCO, 1997). A concentração de uréia no sangue reflete sua taxa de produção durante o catabolismo de aminoácidos e sua excreção pelo rim, enquanto os níveis de creatinina no sangue resultam dos balanços entre sua produção no músculo, resultado do catabolismo da creatina e sua excreção renal (SFORCIN, 1996). Qualquer processo que induza um aumento do catabolismo protéico pode resultar em elevação na concentração sanguínea de uréia (SATAKE, 2006). Os níveis de uréia não tiveram efeito de tratamento ($P > 0,05$), porém os valores obtidos foram superiores aos considerados normais (2,0 a 8,0 mg/dL), provavelmente devido à alimentação, que os cordeiros estavam recebendo, constituída basicamente de concentrado com teores de proteína bruta em torno de 19%; haja vista que a concentração de uréia está em relação direta com o aporte protéico da ração. As concentrações

de creatinina, embora não significativas ($P > 0,05$), encontraram-se um pouco abaixo dos valores de referência (1,2 a 1,9 mg/dL) para a espécie. SFORCIN (1996) também não verificou alterações nesse parâmetro, reforçando a ausência de injúrias renais drásticas mediante a administração de própolis.

A glicose é uma boa indicadora do metabolismo de carboidratos, e seus níveis no sangue podem ser alterados por fatores genéticos e ambientais, assim como pela idade, temperatura corporal, alimentação e alguns medicamentos, entre outros, segundo McLAUGHLIN & FISH (1994). Os níveis de glicose plasmáticos dos cordeiros não tiveram efeito dos tratamentos ($P > 0,05$), porém estão acima dos valores de referência (50 a 80 mg/dL), isso possivelmente devido a alimentação, rica em energia, que os cordeiros recebiam (McLAUGHLIN & FISH, 1994) demonstrando um desequilíbrio entre seu consumo e sua absorção pela corrente sangüínea. HOLLANDS et al (1991) e SFORCIN (1996) não observaram alterações nos níveis sangüíneos de glicose em ratos tratados com soluções hidroalcoólicas de própolis.

Tabela 7. Valores médios para uréia, creatinina, glicose, proteínas totais, albumina, bilirrubina total, bilirrubina total, bilirrubina indireta de cordeiros alimentados com extrato de própolis na ração.

Parâmetro	Ração ¹			CV ² (%)
	T ₀	T ₁	T ₂	
Uréia (mg/dL)	30,96a	35,45a	32,15a	23,08
Creatinina (mg/dL)	0,92a	0,88a	0,91a	14,44
Glicose (mg/dL)	79,44a	81,30a	85,04a	15,08
Proteínas totais (g/dL)	5,31ab	5,49a	5,10b	9,12
Albumina (g/dL)	2,50a	2,58a	2,50a	10,93
Bilirrubina total (mg/dL)	0,79a	0,74a	0,40b	44,48
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,07a	0,04a	0,04a	165,39
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,78a	0,67a	0,66a	77,65

¹T₀= controle, sem adição de extrato de própolis; T₁ = adição de 15 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal; T₂ = adição de 30 mg de extrato de própolis/kg de peso corporal.

Médias seguidas por letras diferentes nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*significativo ($P < 0,05$).

²CV = coeficiente de variação

As proteínas totais são sintetizadas pelo fígado, e a síntese da albumina realizada exclusivamente pelo parênquima hepático e dentre suas funções incluem cessão de aminoácidos para os tecidos, manutenção da pressão coloidosmótica

coloidal, tampão para manutenção do equilíbrio ácido-base, transporte de várias moléculas ou íons, hemostasia, controle da resposta inflamatória e participação na resistência a infecções. A albumina é a mais abundante das proteínas plasmáticas, compreendendo de 35 a 50 % da proteína total em mamíferos (THOMAS, 2000).

Houve efeito de tratamento ($P < 0,05$) para as concentrações séricas de proteínas totais, que se revelaram abaixo dos valores considerados normais (6 a 7,9 g/dL), discordando de SFORCIN (1996) que não observou diferenças quanto ao conteúdo sérico de proteínas totais dos ratos estudados, após o tratamento com própolis. Reduções nos teores séricos de albumina e/ou proteínas totais podem estar associadas a doenças renais ou hepáticas.

Já os níveis séricos de albumina não diferiram ($P > 0,05$) e as médias dentro da normalidade para a espécie ovina (2,4 a 3 g/dL), concordando com os resultados de GARCIA et al. (2004) que não notaram alterações nas concentrações de albumina das coelhas estudadas.

A dosagem de bilirrubina sérica é um dos testes que permitem verificar a funcionalidade hepática, especialmente no que se refere a sua função excretora. A bilirrubina é um subproduto da degradação enzimática da hemoglobina. Na corrente sanguínea se apresenta nas formas conjugada (bilirrubina direta) e a não-conjugada (bilirrubina indireta). Aproximadamente 80% da bilirrubina produzida pelos mamíferos é derivada de eritrócitos velhos removidos da circulação pelo sistema mononuclear fagocitário (TENNANT, 1997).

A concentração de bilirrubina total foi influenciada pelos tratamentos ($P < 0,05$), com menores médias para os cordeiros do tratamento 3 (30 mg de extrato de própolis) na ração. Já os valores obtidos nos cordeiros do tratamento 2 e nos do tratamento controle, não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$), com todas as médias dentro da normalidade.

Embora não tenha havido efeito de tratamento ($P > 0,05$) nos níveis séricos de bilirrubina direta; seus valores, além de estarem dentro da normalidade (0,0 a 0,27 mg/dL), foram numericamente menores no soro dos cordeiros que receberam os níveis

de 15 e 30 mg de extrato de própolis. Aumentos na concentração de bilirrubina direta estão associados com doenças hepatocelular ou obstrução dos ductos biliares, o que não foi observado, confirmando o efeito hepatoprotetor da própolis, reportado por BANSKOTA et al. (2000).

As médias das concentrações de bilirrubina indireta, não diferiram ($P>0,05$), podendo-se observar, ainda, que os valores foram superiores aos de referência para a espécie (0,0 a 0,12 mg/dL), embora o soro dos cordeiros que recebiam 30 e 15 mg de extrato de própolis tiveram valores numericamente inferiores (0,66 e 0,67 mg/dL, respectivamente) ao do tratamento controle (0,78 mg/dL). Segundo BUSH (2004), aumentos na concentração de bilirrubina indireta estão relacionados principalmente a anemias hemolíticas.

4. CONCLUSÕES

A adição de extrato de própolis às rações dos cordeiros não provocou alterações importantes nos parâmetros hematológicos e bioquímicos, que pudessem indicar reações adversas à sua administração.

5. REFERÊNCIAS

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Robe Editorial. 583p. 2003.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1989.

BANSKOTA, A. H. et al. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **Journal Ethnopharmacology**, Sharmon, v. 72, p. 236 - 246, 2000.

BLOOD, D.C.; RADOSTITIS, O.M. **Clínica Veterinária**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1262p. 1991.

BUSH, B.M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. .ed. São Paulo: Roca, 376p. 2004.

CIARLINI; P.C. et al. Serum pepsinogen concentration in Suffolk and Polwarth ewes at the end of gestation, during lactation and after weaning. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 17 - 21. 2000.

DOORNEBAL, H. et al. Studies on the performance, development and carcass composition of the growing pig: effects of sex, feeding regime and blood serum parameters. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v. 63, p. 977 - 984, 1983.

FINCO, D.R. Kidney function. In: KANEKO, J.J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, p. 441 - 484, 1997.

GARCIA, R.C. et al. Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 57 - 67, 2004.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Varela, 206 p. 2005.

HOLLANDS, I. et al. Demonstración ultraestructural del efecto citohepatoprotector d el propoleos. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, Havana, v. 22, p. 85 - 90, 1991.

MATOS, M.S.; MATOS, P.F. **Laboratório clínico médico-veterinário**. 2. ed. São Paulo: Editora Parma, 238p. 1988.

McLAUGHLIN, R.M.; FISH, R.E. **Clinical Biochemistry and Hematology**, Academic Press, p.11 - 125, 1994.

NRC - Nacional Research Concil. **Nutrient requirements of sheep**. Washington, D.C.: National Academy Press, 99p. 1985.

PINHEIRO, R.R.; ANDRIOLI, A. Constituintes séricos em ovinos SRD sem raça definida no semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n. 2, 2002.

SAS - Statistical Analysis Systems. 1996. **User's Guide**. North Caroline: SAS Institute Inc., 1996.

SATAKE, F. **Constituintes sanguíneos de bugios-pretos (*Alouatta caraya*) e macacos-pregos (*Cebus apella*) capturados no resgate de fauna da usina hidrelétrica Engenheiro Sérgio Motta**. 2006. Tese (Doutorado) – Faculdade de

Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 60f., 2006.

SFORCIN, J.M. **Efeito da sazonalidade sobre as propriedades imunomoduladora e antibacteriana da própolis e perfil bioquímico dos ratos** . 1996. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J. et al. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, p. 327 - 352, 1997.

THOMAS, J.S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B.F. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Baltimore:Lippincott Williams & Wilkins, p. 891 - 898, 2000.

VALLADA, E.P. **Manual de Técnicas Hematológicas**. Rio de Janeiro: Atheneu. 423p. 2002.