

UFRRJ

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

TESE

**Micotoxinas na Dieta dos Equinos: Influência
Sobre a Digestão, o Metabolismo e o
Desempenho**

Auro César Braga

2017



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**MICOTOXINAS NA DIETA DOS EQUINOS: INFLUÊNCIA SOBRE A
DIGESTÃO, O METABOLISMO E O DESEMPENHO**

AURO CÉSAR BRAGA

Sob a Orientação do Professor
Fernando Queiroz de Almeida

e Co-orientação do Professor
Carlos Alberto da Rocha Rosa

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-graduação em Ciência Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Área de Concentração em Patobiologia Animal.

Seropédica, RJ
Março, 2017

B813m

Braga, Auro César, 1965-

Micotoxinas na dieta dos equinos: influência sobre a digestão, o metabolismo e o desempenho/Auro César Braga - 2017

86 f.: il.

Orientador: Fernando Queiroz de Almeida. Coorientador: Carlos Alberto da Rocha Rosa. Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, 2017.

Bibliografia: f. 45-52

1. Aflatoxina. 2. Digestibilidade. 3. Hematologia. I. Almeida, Fernando Queiroz de, 1959-, orient. II. Rosa, Carlos Alberto da Rocha, 1953-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária. IV. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que seja citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
EM AGROPECUÁRIA

AURO CÉSAR BRAGA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor** no Programa de Pós-Graduação em Ciência Tecnologia e Inovação em Agropecuária, área de concentração em Patobiologia Animal.

TESE APROVADA EM 24/03/2017

Fernando Queiroz de Almeida. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Vinicius Pimentel Silva. Dr UFRRJ

Francisco Duque de Mesquita Neto. Dr. UFLA

Luiz Antônio Moura Keller. Dr UFF

Maria Izabel Vieira de Almeida. Dra UFES

Dedico este trabalho à minha esposa Meire,
meus filhos Débora, Laura, Theófilo e Anita,
meu genro Fabrício e meu neto Miguel,
pelo carinho, apoio e incentivo em todos os momentos da vida.

*Aos meus pais (Jonas in memoriam) e Alice,
Meus irmãos (Antonio in memoriam) e
tios Salomão e Vair
aos quais admiro e tenho como exemplos na vida.*

AGRADECIMENTOS

À Deus,
pelas bênçãos recebidas e que me possibilitaram realizar esse sonho.

Ao Prof^o Dr. Fernando Queiroz de Almeida, professor orientador, cuja confiança, orientação, apoio e amizade tornou possível a realização deste curso.

Ao Prof^o Dr. Carlos Alberto da Rocha Rosa (Shalako), professor co-orientador, pelo apoio e orientação na realização deste estudo.

Ao Gen Bda Vinicius Ferreira Martinelli, Comandante da Escola de Sargento das Armas (ESA), que possibilitou e apoiou a realização desta pesquisa.

À Prof^a Dr^a. Lucia Anjos, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Ciência Tecnologia e Inovação em Agropecuária– PPGCTIA, pela orientação e pelo exemplo de dedicação na coordenação deste Curso.

Ao Prof^{os} Dr Vinicius Pimentel Silva e Dr^a Kelly Moura Kellen, pela significativa contribuição na realização desta pesquisa.

Aos integrantes da equipe de pesquisadores do LADEq e estagiarias, (Marcelle e Gisele) pelo apoio na realização dessa pesquisa.

Aos atuais e ex-chefes, em especial ao Cel Saburi (EsFCEx), pela compreensão e apoio nas horas dedicadas ao aperfeiçoamento profissional.

Ao Prof^o Dr Gilberto Leite, Cel Gervásio e Major Rodrigues, pela amizade, incentivo e apoio.

Aos integrantes da ESA (Seção de Equitação, Veterinária e Laboratório Clínico), em especial, Maj Ferreira, Cap Rodrigo, Cap Bruno Lopes, Ten Félix, Ten Marina, Ten Freddy, Ten Danielle, Ten Diegues, Sgt Crescêncio, Sgt Luiz Carlos, Estagiária Luciana Carletto, Sd Silva Batista, cabos e soldados, pelo incondicional apoio na realização desta pesquisa.

À todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência Tecnologia e Inovação em Agropecuária do Programa Binacional de Doutorado Centros Associados Brasil/Argentina, em especial a funcionária Renata pelo apoio prestado no desenvolvimento do curso.

ORACÃO À SANTA TERESA D'ÁVILA¹

NADA TE PREOCUPE,

NADA TE AMEDRONTE,

TUDO PASSA, SÓ DEUS NÃO MUDA.

A PACIÊNCIA TUDO ALCANÇA.

A QUEM TEM DEUS, NADA FALTA.

SÓ DEUS BASTA!

AMÉM

¹ Santa Teresa de Ávila (também conhecida como Santa Teresa de Jesus). Nasceu em Ávila na Espanha, em 1515, foi uma freira carmelita e santa católica do século XVI. Escreveu várias obras e fundou vários conventos. No dia 27 Set 1970 o Papa Paulo VI reconheceu-lhe o título de Doutora da Igreja.

RESUMO

BRAGA, Auro César. **Micotoxinas na dieta dos equinos: influência sobre a digestão, o metabolismo e o desempenho.** 67f. Tese (Doutorado em Ciência Tecnologia e Inovação em Agropecuária), Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Objetivou-se verificar o efeito das micotoxinas sobre os principais parâmetros fisiológicos, bioquímicos e hematológicos dos equinos. A pesquisa foi conduzida na Escola de Sargentos das Armas (ESA), em Três Corações, MG. O período experimental total foi de 40 (quarenta) dias, dividido em duas fases, uma pré-experimental de 12 (doze) dias e a fase experimental de 28 (vinte e oito) dias. Na fase experimental, os animais foram distribuídos, de forma homogênea, em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcela sub-dividida, com três tratamentos com quatro animais cada, sendo o animal a unidade experimental. Diariamente, durante a fase experimental, foi fornecido aos animais um quilograma de ração concentrada preparada, com 50 ppb ou 100 ppb de AFB₁, conforme o tratamento preconizado, sendo essa a quantidade máxima consumida por animal, independentemente do peso. Durante as 4 semanas de duração do experimento, uma vez por semana foram coletadas amostras de sangue, tendo como objetivo a verificação da sanidade animal por meio do monitoramento da função hematológica, renal e hepática, por meio da avaliação dos índices hematimétricos e da bioquímica sanguínea. O desempenho foi avaliado pelo exercício físico intervalado realizado aos 21 dias da fase experimental. O exercício constou de um aquecimento prévio de 17 (dezessete) min ao trote e ao passo seguido de três galopes de 450 m/min, com monitoramento da frequência cardíaca (FC) entre os galopes. Previamente ao exercício e imediatamente após o 3º galope, foram monitorados os parâmetros fisiológicos e sanguíneos que continuou por um período de até 48 horas após o exercício. Ao final da fase experimental, os animais foram submetidos ao ensaio de digestão, pelo método de coleta parcial de fezes, utilizando-se o LIPE[®] como indicador. Os resultados dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e fisiológicos e da digestibilidade da dieta foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Observou-se que a presença de aflatoxina na dieta influenciou as taxas de glóbulos brancos, especialmente os granulócitos, a atividade sérica da Creatina Quinase e da Fosfatase Alcalina (FAL), que apresentou maiores valores no tratamento com 100 ppb AFB₁. No exercício, a presença da AFB₁ influenciou a atividade da FAL, que apresentou médias superiores no tratamento com 100 ppb, possivelmente decorrente da ação hepatotóxica associada das micotoxinas presentes nos alimentos. Não se observou ação das micotoxinas, nas concentrações utilizadas na digestibilidade dos nutrientes, contudo, a presença de micotoxinas nos alimentos, representa uma ameaça silenciosa para os animais, especialmente os equinos.

Palavras-chave: Aflatoxina. Digestibilidade. Hematologia

ABSTRACT

BRAGA, Auro César. **Mycotoxin in horses's diets: effects on digestion, metabolism and performance.** 67p. Thesis (Doctor in Science Technology and Innovation in Agriculture). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

The objective was to verify the effect of mycotoxins on the physiological, biochemical and hematological parameters of horses. The research was conducted at School Sergeants of Arms (ESA), in Três Corações, MG. The total experimental period was 40 (forty) days, split into two phases, one pre-experimental of 12 (twelve) days and the experimental phase of 28 (twenty eight) days. Along experimental phase, the animals were homogeneously distributed in a completely randomized design in a split/plot arrangement, with three treatments with four animals each, the animal being the experimental unit. In this phase, a one kg of concentrated meal prepared with 50 ppb or 100 ppb of AFB₁ was fed daily to the animals, according to the recommended treatment. During the 4-week duration of the experiment, blood samples were collected once a week to verify animal health by monitoring hematological, renal and hepatic function, by means of the evaluation of hematimetric indices and blood biochemistry. The performance was assessed by the physical exercise effort performed at 21 days of the experimental phase. The exercise consisted of a previous warm-up of 17 (seventeen) min at a trot and followed by three gallops of 450 m / min, with heart rate (HR) monitoring between the gallops. Before the exercise and immediately after the third gallop, the physiological and blood parameters were monitored along of 48 hours after exercise. At the end of the experimental phase, the animals were submitted to the digestion test, using the partial feces collection method, with LIPE® as an indicator. The results of the hematological, biochemical and physiological parameters and the diet digestibility were submitted to analysis of variance (ANOVA) and compared by the Tukey test at 5% of significance. The presence of aflatoxin in the diet influenced white blood cell rates, especially granulocytes, serum creatine kinase activity and alkaline phosphatase (FAL), which presented higher values in the treatment with 100 ppb AFB₁. In response to exercise, the presence of AFB₁ influenced FAL activity, which presented higher averages in the treatment with 100 ppb, possibly due to the associated hepatotoxic action of mycotoxins in the diets. There was no action of mycotoxins at concentration used in the digestibility of nutrients; however, the presence of mycotoxins in food exposes the animals to continual risk, especially the equines.

Key words: Aflatoxin. Digestibility. Hematology.

RESUMEN EXTENDIDO

BRAGA, Auro César Braga. **Micotoxinas en dietas de equinos: influencias sobre la digestión, metabolismo y desempeño.** 67p. Tesis (Doctorado en Ciencia Tecnología e Innovación en Agropecuaria). Pró-reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

1. Introducción

La dieta de los equinos se compone principalmente de pastos y forrajes de heno y cereales, que se ofrecen en forma de una nutrición equilibrada concentrada. Los principales productos alimenticios que comprenden el concentrado equino son: maíz, avena, trigo, soja, entre otros. Estos alimentos están continuamente sometidos a la contaminación con hongos productores de micotoxinas, ya sea antes, durante o después de la cosecha, así como el proceso de almacenamiento. Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por los hongos filamentosos que causan un efecto tóxico (micotoxicosis) cuando son ingeridos por los animales superiores. En Brasil, varias micotoxinas se han identificado en los alimentos para consumo humano y animal. Sin embargo, debe tenerse en cuenta la importancia de la aflatoxina, fumonisina, ocratoxina, zearalenona y tricotecenos, no sólo por la ocurrencia frecuente, sino también por el alto potencial toxigénico interés demostrado en la cría de animales. También se destacan las pérdidas económicas debido a la ingestión de alimentos contaminados con micotoxinas, que se estima en US \$ 5 mil millones en los Estados Unidos y Canadá. Aunque está presente reconocida importancia en la salud pública, la sanidad animal, no hay reglas uniformes de los límites de las micotoxinas en los diferentes países, sobre todo en los países del MERCOSUR (Brasil / Argentina). Los alimentos más afectados son aquellos que no han sufrido ninguna transformación o industrialización. Es importante tener en cuenta en la evaluación de los efectos tóxicos de las micotoxinas, no sólo información sobre la ingesta de dosis individuales, sino también ser considerado como el potencial para la interacción sinergismo, especialmente entre las aflatoxinas y otras micotoxinas, tales como las fumonisinas, ochratoxina y tricotecenos. Raymond et al. (2005) hacen hincapié en que una preocupación, especialmente para caballos de deporte es que la ingesta crónica de bajos niveles de micotoxinas afectan al rendimiento, sin embargo, la presentación de los síntomas clínicos evidentes en los animales. Por lo tanto, la presente investigación tiene como objetivo verificar si los actuales niveles de micotoxinas, aflatoxina B₁ (AFB₁) en los alimentos, según las leyes en vigor, afectar a la salud equina ejercen influencia sobre las variables fisiológico, bioquímicos y hematológicos de caballos.

2. Material y Métodos

El experimento se llevó a cabo en la Escuela de Sargentos de Armas (ESA), la latitud 21 42'15.6 " Sur y longitud 45 ° 15'18.9 " de longitud oeste, el Ejército de Brasil en Tres Corazones, Minas Gerais. Doce caballos, siendo nueve hembras y tres machos de las razas mestizos y brasileños ecuestres, con edad entre 5 y 8 años y el peso corporal de 458.02 ± 22.09 kg. El periodo experimental fue de 40 (cuarenta) días, dividido en dos fases, una preventiva de doce (12) días y la fase experimental de 28 (veintiocho) días. Durante la fase experimental, los animales fueron distribuidos, homogéneamente en un diseño completamente al azar en el diseño de parcelas sub-dividida, con tres tratamientos con cuatro animales cada uno, siendo los animales de la unidad experimental. El número de animales se definió en vista de la complejidad del experimento y la disponibilidad de insumos, particularmente el núcleo que contiene las aflatoxinas. Los animales fueron alimentados con dos (2) kg de alimentación a 05 h y de dos (2) kg as 17 h; heno de alfalfa

a las 10 h y 13 h y tifton a 20 h. Durante el período de prueba, la temperatura media fue de 21° C grados y la media URAR fue 62,4%. La fase experimental tuvo duración de 28 días. Diario, en la alimentación de 17 h, se proporcionó a los animales un kilogramo de alimento concentrado preparado con 50 ppb o 100 ppb de aflatoxina B₁, como tratamiento recomendado, que es la cantidad máxima consumida por animal, independientemente de su peso. Durante la duración de 4 semanas del experimento, una vez a la semana por la mañana, los ocho (08) horas, se recogieron muestras de sangre, comenzando el 20 de junio, es decir, primer día del experimento, y esta colección control o pre-experimento. Las otras colecciones siguieron los siete (7), catorce (14), 21 (veintiuno) y 28 (veintiocho) días de alimentación, con el objetivo de verificar la salud de los animales a través de la supervisión de hematológica, renal y hepática. Monitorización de la función y el metabolismo renal o hepática se realizó por evaluación de los parámetros bioquímicos de la sangre. El rendimiento fue evaluado por el ejercicio físico intervalo de 11 de julio, después de 21 días de la fase experimental. En el día, la temperatura promedio era de 21,5° C grados, con un mínimo de 12,2° C y un máximo de 28,1° C grados y URAR medio fue de 62,4%. Para realizar la prueba de esfuerzo, los animales fueron sometidos previamente a la formación física estándar por cincuenta (50) minutos por 5 (días) días a la semana, en las primeras tres semanas de la fase experimental. El ejercicio de entrenamiento en flexión, intercalando el paso y el trote, de modo que, para la realización del ejercicio de evaluación de intervalo, todos tenían el mismo condicionamiento físico. El ejercicio consistió en un calentamiento previo de 17 (diecisiete) min trote y paso seguido por tres galopes 450 m / min, con monitorización de la frecuencia cardíaca (FC) entre los galopes, por lo que los animales podrían ir al siguiente galope cuando la FC hasta un 60-70 bpm. Para la evaluación del rendimiento, antes del ejercicio e inmediatamente después de la 3ª galope, que fueron controlados frecuencia respiratoria (FR) y FC y realiza el muestreo de sangre para el análisis del volumen globular, glucosa, lactato y la sangre bioquímica, que continuó en los tiempos de recogida después de el ejercicio, por un período de 48 horas. Al final del periodo experimental, los animales se sometieron a la prueba de la digestión por el método de recolección parcial de las heces, mediante administración del LIPE® como un indicador siguiendo la metodología descrita por Saliba et al. (2003) y Saliba et al. (2013). Durante seis (6) días, del 21 al 26 día de la fase experimental, se administró una cápsula de 500 mg LIPE®, a la alimentación de las diecisiete (17) horas. Después de 48 (cuarenta y ocho) horas, comenzó la recogida de heces, al mismo tiempo, directamente en el recto durante 5 (cinco) días. Muestras diarias por animal, formadas al final del período de recogida de una muestra compuesta, que se congeló a -18 ° C para el análisis de las muestras de heces. Las heces y los alimentos empleados fueron analizados para materia seca, nitrógeno y extracto etéreo de acuerdo con la metodología descrita Silva (2002). Los análisis de fibra en ácido detergente se realizaron de acuerdo con el método descrito por Van Soest (1967) y Van Soest et al. (1991). Los resultados hematológicos, bioquímicos y de los parámetros fisiológicos y la digestibilidad de los alimentos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) en el esquema de parcela subdividida y se compararon los parámetros la prueba de Tukey al 5% de significación utilizando el Análisis del Sistema Estadístico y Genético - SAEG (SAEG, 2007).

3. Resultados y Discusión

3.1 Los casos de micotoxinas

Los resultados para las micotoxinas en los alimentos de la base de la dieta utilizada en este estudio fueron 5.620 ppb de deoxinivalenol (DON), 708.03 ppb para la zearalenona (ZEA) y 560 ppb para la fumonisina B₁ (FB₁). Estas cantidades muestran que la presencia de micotoxinas en la alimentación de los caballos es un problema grave en todo el mundo y en Brasil, si las condiciones meteorológicas favorables para la multiplicación de hongos

productores (CALONI; CORTINOVIS, 2010; SCHULZ, 2015). La presencia simultánea de DON, ZEA y FB1 en la alimentación equina, debe posiblemente la presencia de maíz en la constitución de la misma. Como se ha señalado Liesener et al. (2010) estudiaron la presencia de micotoxinas en 62 diferentes tipos de alimento concentrado suministrado a los caballos que, tanto en la categoría de alimentos clasificados como mezclas de cereales (cebada, trigo, avena y maíz) y en el grupo de alimentos en gránulos, no había clara relación entre la proporción de un grano particular sobre la presencia de una micotoxina específica. Sin embargo, después de analizar individualmente la comida que se indique que las micotoxinas tienen un perfil de distribución específica y maíz, entre los cultivos evaluados, mostró que el aumento de la susceptibilidad a la contaminación con DON, ZEA y FB1. Caloni; Cortinovic (2010) señalan que la aparición simultánea de micotoxinas de *Fusarium* como DON y ZEA es un tema importante a observar, debido a sus implicaciones en la salud y el bienestar animal.

3.2 Hematología

Los resultados de hematología obtenidos por colecciones semanales durante 28 días (Tabla 1) demostraron un efecto del tiempo para todos los parámetros estudiados. Buscado con estos análisis para observar la posible interacción de las aflatoxinas en los procesos hematológicos equinos. Se encontró que había una influencia directa de la aflatoxina blanco de los niveles de aflatoxinas y en función del tiempo en los niveles de monocitos. Para otros parámetros no hubo influencia de la aflatoxina, como era de esperar. Es importante destacar que la presencia de DON en la dieta de los caballos basa en esta investigación. Uno de los primeros signos observados en los cerdos es la negativa de alimentos y la pérdida del peso. Además, exposición a los tricotecnos induce anorexia, letargo, somnolencia y ataxia y posiblemente disminución de la función inmune (CORTINOVIS et al. 2012). Caloni; Cortinovic (2010) informaron que los caballos alimentados durante 40 días con cebada contaminada de manera natural con DON entre 36 y 44 ppm, no mostraron efectos tales como rechazo de la comida o la alteración de hematología y bioquímica y la sangre, lo que sugiere que a medida que los rumiantes, caballos son relativamente resistentes a los efectos adversos de DON.

Tabla 1 - Valores medios de hematología de caballos alimentados durante 28 días con diferentes concentraciones de AFB₁ en la dieta

	Média	CV (%)	Significación (P<0,05)			Valores de referencia
			AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo	
Volumen corpuscular (%)	33,8	5,8	0,33492	0,0011	NS	38-42 ¹
Eritrocitos (10 ⁶ µL ⁻¹)	7,5	5,9	NS	0,0016	NS	7-11 ¹
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	11,4	5,5	0,2533	0,0000	NS	11-17 ¹
VCM (fL)	45,4	0,9	NS	0,0032	NS	42-47 ¹
CHCM (%)	33,7	1,1	NS	0,0000	NS	31-38,6 ²
Leucócitos totales (10 ³ µL ⁻¹)	7,9	8,5	0,0783	0,0009	0,3252	6-11 ¹
Linfocitos (10 ³ µL ⁻¹)	3,5	16,2	NS	0,0027	0,1244	2-5,5 ¹
Monocitos (10 ³ µL ⁻¹)	1,4	17,6	NS	0,0280	0,0254	0,2-0,8 ¹
Segmentados (10 ³ µL ⁻¹)	2,9	12,3	0,0000	0,0010	0,0276	2,3-8,6 ³

¹ROSE; HODGSON (1994); ²CARLSON (1993); ³ROBINSON (1997);

CV: Coeficiente de variación;

VCM: Volumen corpuscular medio;

CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

4.3 Bioquímica de la sangre

Hemos tratado de evaluar los efectos de las aflatoxinas en la bioquímica sanguínea, utilizando como indicadores de metabolitos y enzimas (Tabla 2). El perfil bioquímico del plasma puede ser utilizado como un indicador de los procesos de adaptación del cuerpo, energía, proteínas y metabolismo mineral, y proporcionar información sobre las condiciones de la función hepática y renal (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Tabla 2 - Valores medios de bioquímica sérica de caballos alimentados durante 28 días con diferentes concentraciones de AFB₁ en la dieta

Parâmetros	Média	CV ⁶	Significación (P<0,05)			Valores de referencia
			AFB ₁	Tiempo	AFB ₁ X Tempo	
Proteínas totales (g dL ⁻¹)	5,3	22,4	0,0731	0,0002	0,1332	5.2-7.9 ³
Albuminas (g dL ⁻¹)	2,1	23,0	NS	0,0002	0,1437	2.6-3.7 ³
Globulinas (g dL ⁻¹)	3,2	22,4	0,0914	0,0004	0,1264	2.6-4.0 ³
Colesterol (mg dL ⁻¹)	86,2	20,2	0,2112	0,0002	0,0902	75-150 ²
Ureia (mg dL ⁻¹)	29,5	20,4	0,2436	0,0000	NS	24-48 ¹
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,9	14,6	0,2453	0,0000	NS	1,1-1,8 ¹
Gama Glutamil Transferase (U L ⁻¹)	7,7	21,8	0,2679	0,1816	0,3309	4,3-13 ⁵
Aspartato Transferase (U L ⁻¹)	288,7	24,0	0,0580	0,2085	NS	150-400 ¹
Creatina Kinase (U L ⁻¹)	295,4	32,4	0,0229	0,0000	0,4400	100-300 ¹
Lactato desidrogenase (U L ⁻¹)	845,2	38,0	0,090	0,3195	NS	162-412 ³
Fosfatase alcalina (U L ⁻¹)	67,7	20,9	0,0119	0,0262	NS	100-500 ⁴

¹Rose; Hodgson (1994); ²Robinson (1997); ³González; Silva (2006); ⁴Kerr (2002); ⁵Thomassian (2005)

⁶CV: Coeficiente de variación;

3.4 Resultados del Rendimiento Físico

3.4.1 Parámetros fisiológicos

No hubo interferencia de la presencia de aflatoxina B₁ en los resultados de la frecuencia respiratoria (FR) y cardíaca (FC) en respuesta al ejercicio (P> 0,05). La frecuencia respiratoria y cardíaca fueron controlados en el pre-ejercicio, inmediatamente después hasta de 20 minutos. Los resultados muestran una respuesta natural de los caballos al ejercicio, con un aumento de la FR con el FC, inmediatamente después del ejercicio, con tendencia de retorno a la basal niveles en el tiempo de 20 min. Entre las respuestas metabólicas observadas en el ejercicio, hay una mayor capacidad de oxigenación de la sangre a través de las tasas de FC y FR aumentados, a la contracción esplénica que conduce a aumentar el número de glóbulos rojos en la sangre (aumento de VG y hemoglobina) y los intentos de los animales para mantener termorregulación (GONZÁLEZ; SILVA, 2006; KINGSTON, 2008). Los valores difieren de los observados por Paludo et al (2002), en animales de raza BH, que tenía FC 40,83 ± 4,71 y 16,67 ± 3,05 FR, el pre-ejercicio y 53, 67 ± 8,24 y 37,33 ± 11.5 para FC y FR, respectivamente, después del ejercicio.

3.4.2 Parámetros de la sangre

La inclusión de aflatoxina en la dieta no afectó a los parámetros de la sangre en el año, con la excepción de la actividad de la enzima Fosfatase Alcalina. Se esperaba que la presencia de aflatoxinas en conjunción con otras micotoxinas, en particular, la FB podría revelar cambios en el perfil hemática durante el ejercicio. El consumo de dosis bajas de

micotoxinas, durante períodos prolongados puede afectar a la salud y el rendimiento del caballo. (RAYMOND et al., 2005). El hígado juega un papel centralizador en el metabolismo, la síntesis y distribución de nutrientes a los órganos periféricos por el torrente sanguíneo (GONZÁLEZ; SILVA, 2006), por lo tanto, era de esperar que micotoxinas hepatotóxicas podrían afectar el metabolismo hepático, que influyen en los resultados de búsqueda. Sin embargo, los cambios evidentes son los observados, como resultado de la realización del ejercicio adecuadamente, sin la interferencia de la aflatoxina.

3.5 Digestibilidad de los nutrientes

Los niveles de aflatoxinas no afectaron el consumo de nutrientes ($P > 0,05$). La ingesta media de materia seca fue 10,99 kg / animal / día, aproximadamente el 2,40% del peso del cuerpo, conveniente para los animales con un promedio de 450 kg, según la NRC (2007). La presencia de micotoxinas en la dieta no afectó la digestibilidad de los nutrientes ($P > 0,05$), como era de esperar. Bryden (2012) reportado que con niveles de contaminación de 0,7 a 7,6 mg / kg de DON y la zearalenona por encima de 0,45 mg/kg aumentado la proteína cruda y la energía metabolizable verdadera y la disponibilidad de los aminoácidos de la avena y maíz. La presencia de micotoxinas en los niveles encontrados en las dietas experimentales, así como las posibles interacciones entre ellos no fueron suficientes para cambiar el consumo y la digestibilidad aparente de los nutrientes estudiados. Es de destacar que no se observó en este estudio rechazo del alimento y pérdida de peso en los grupos de animales estudiados. Deduce que los caballos no fueron sensibles a la acción de las micotoxinas en los niveles estudiados. Las aflatoxinas causan una serie de alteraciones metabólicas están asociados con daños en el hígado, enzimas digestivas y la reducción de la inmunosupresión (GLAHN et al 1994; GIACOMINI et al 2006; SALIM et al 2011.). Estos efectos pueden ocurrir en baja y prolongada exposición. En consecuencia, aunque se han utilizado niveles bajos, el tiempo de observación ha sido posiblemente no suficiente para causar efectos en el metabolismo del animal, las variables observables.

4. Conclusiones

En materia de salud, la presencia de aflatoxinas en las dietas resultado en aumentado de las tasas de glóbulos blancos, especialmente de segmentados, lo que sugiere una mayor respuesta inmune en los tratamientos de 50 ppb y 100 ppb de aflatoxina B₁.

Resultado en la influencia de la actividad sérica de la Creatina quinasa (CK) y de Fosfatasa alcalina (FAL) que tuvo el promedio más alto en el tratamiento con 100 ppb de aflatoxina B₁, lo que es posiblemente debido a la acción hepatotóxicos asociada de estas micotoxinas en los alimentos.

En el rendimiento, en respuesta al ejercicio, la presencia de aflatoxinas influyó en la actividad de la FAL, que tuvo promedios más altos en el tratamiento con 100 ppb, lo que sugiere una acción hepatotóxicos asociada de estas micotoxinas en los alimentos.

No había ninguna acción de los niveles de micotoxinas utilizados en la ingesta y la digestibilidad de los nutrientes, sin embargo, la presencia de micotoxinas en los alimentos animales exponer continuamente la situación de riesgo, en particular caballos.

Palabras-clave: Aflatoxina. Digestibilidad. Hematología

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AF	Aflatoxina
AFB1	Aflatoxina B1
AFB2	Aflatoxina B2
AFG1	Aflatoxina G1
AFG2	Aflatoxina G2
ANOVA	Análise de varincia
AST	Aspartato aminotransferase
Aa	Atividade da gua
BH	Brasileiro de Hipismo
Bpm	Batimento por minuto
Ci	Concentrao inicial
Cf	Concentrao final
CCE	Concurso Completo de Equitao
CEE	Comunidade Economica Europeia
CHCM	Concentrao de Hemoglobina Corpuscular Média
CK	Creatina quinase
CREAT	Creatinina
CV	Coefficiente de Variao
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da Matéria Seca
DON	Desoxinivelanol
FAL	Fosfatase Alcalina
FB ₁	Fumonisina B1
FB ₂	Fumonisina B2
FC	Frequencia Cardíaca
FDA	Fibra em Detergente cido
FR	Frequencia respiratória
GGT	Gama glutamil transferase
LDH	Lactato desidrogenase
Lct	Lactato
M/Min	Metro por minuto
NS	Não significativo
PT	Proteina Total
URAr	Umidade Relativa do Ar
VCM	Volume Corpuscular Médio
Vi	Volume inicial
Vf	Volume final
VG	Volume Globular
ZEA	Zearalenona

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	No processo de detoxificação a aflatoxina B ₁ é ativada pela enzima <i>Citocromo</i> P450	6
Figura 2	Similaridade estrutural entre a fumonisina B ₁ e as bases precursoras dos esfingolipídios	8
Figura 3	Mecanismo de ação das Fumonisinás.....	9

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Principais micotoxinas na alimentação dos equinos, sua origem e efeitos clínicos	4
Tabela 2	Recomendação da União Europeia sobre valores máximos de micotoxinas nos produtos destinados a alimentação animal	12
Tabela 3	Fumonisina total (FB1 + FB2 + FB3) na dieta total das várias espécies.....	12
Tabela 4	Composição média, g/kg na matéria seca, das dietas experimentais contendo diferentes níveis de AFB ₁	19
Tabela 5	Composição nutricional dos alimentos utilizados na experimentação dos equinos (na MS)	20
Tabela 6	Equivalência entre os tempos de coletas em minutos/horas.....	21
Tabela 7	Consumo médio de micotoxinas (µg /Kg MS) (µg /Kg PV), de acordo com o tratamento experimental	23
Tabela 8	Hematologia de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	25
Tabela 9	Volume globular (VG, %) médio de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	25
Tabela 10	Eritrócitos (10 ⁶ µL ⁻¹) médio de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	25
Tabela 11	Hemoglobina (g dL ⁻¹) média de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	26
Tabela 12	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM, %) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	26
Tabela 13	Volume Corpuscular Médio (VCM, fL) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	27
Tabela 14	Leucócitos Totais (10 ³ µL ⁻¹) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	27
Tabela 15	Linfócitos (10 ³ µL ⁻¹) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	28
Tabela 16	Monócitos (10 ³ µL ⁻¹) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	28
Tabela 17	Segmentados (10 ³ µL ⁻¹) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	29

Tabela 18	Valores médios da bioquímica sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	30
Tabela 19	Proteína Total (g/dL ⁻¹) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações AFB ₁ na dieta.....	30
Tabela 20	Albumina (g/dL ⁻¹) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	30
Tabela 21	Globulina (g/dL ⁻¹) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	31
Tabela 22	Colesterol (mg/dL ⁻¹) sérico de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	31
Tabela 23	Uréia (mg/dL ⁻¹) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB ₁ na dieta.....	32

Cont.

Tabela 24	Creatinina (mg/dL^{-1}) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta.....	32
Tabela 25	Atividade da Creatina Quinase (CK, UI/L) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta.....	33
Tabela 26	Atividade da Fosfatase Alcalina (FAL, UI/L) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta.....	33
Tabela 27	Frequência Respiratória (FR, resp/min) e Cardíaca (FC, bat/min) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta.....	34
Tabela 28	Parâmetros sanguíneos de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta.....	34
Tabela 29	Volume Globular (VG, %) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 20 minutos.....	35
Tabela 30	Proteína Total (g dL^{-1}) sérica de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 20 minutos.....	35
Tabela 31	Albumina (g dL^{-1}) sérica de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 20 minutos.....	36
Tabela 32	Colesterol (mg dL^{-1}) sérico de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 20 minutos.....	36
Tabela 33	Ureia (mg dL^{-1}) sérica de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 48 horas.....	37
Tabela 34	Creatinina (mg dL^{-1}) sérica de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 48 horas	37
Tabela 35	Atividade da CK (U L^{-1}) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 12 horas	38
Tabela 36	Atividade da AST (U L^{-1}) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 48 horas	38
Tabela 37	Atividade da LDH (U L^{-1}) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 48 horas	39
Tabela 38	Atividade da GGT (U L^{-1}) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 48 horas	40
Tabela 39	Atividade da FAL (U L^{-1}) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta.....	40
Tabela 40	Glicose (mg dL^{-1}) sérica de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta, até 48 horas	41

Tabela 41	Lactato (mmol dL^{-1}) sérico de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes níveis de AFB_1 na dieta, até 6 horas.....	42
Tabela 42	Consumo e coeficientes médios de digestibilidade dos nutrientes da dieta, com diferentes concentrações de AFB_1 (na MS)	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Micotoxinas e Micotoxicoses	4
2.2 Aflatoxinas	4
2.3 Fusariotoxinas	6
2.4 Leucoencefalomalácea	9
2.5 Limites Legais	11
2.6 Perfil Bioquímico Sanguíneo	13
2.6.1 Proteínas totais.....	13
2.6.2 Albumina e globulina.....	13
2.6.3 Uréia e creatinina	14
2.6.4 Glicose e lactato	14
2.6.5 Colesterol	15
2.7 Avaliação Hematológica dos Equinos	15
2.7.1 Eritrócitos	15
2.7.2 Hemoglobina (Hb)	15
2.7.3 Leucócitos	15
2.8 Perfil Bioquímico no Exercício	16
2.8.1 Aspartato aminotransferase (AST)	16
2.8.2 Creatina quinase (CK)	17
2.8.3 Lactato desidrogenase (LDH)	17
2.8.4 Gama glutamil transferase (GGT)	17
2.8.5 Fosfatase alcalina (FAL)	17
2.9 Digestibilidade dos Nutrientes	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Produção e Estimativa de Micotoxinas	19
3.2 Fase Experimental	19
3.2.1 Avaliação do desempenho	21
3.2.2 Ensaio de digestibilidade	21
3.3 Análises Estatísticas	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Ocorrência e Consumo de Micotoxinas	23
4.2 Hematologia	24
4.3 Bioquímica Sanguínea	29
4.4 Desempenho	34
4.4.1 Parâmetros fisiológicos	34
4.4.2 Parâmetros sanguíneos	34
4.4.3 Parâmetros enzimáticos	38
4.4.4 Glicose e lactato	41
4.5 Digestibilidade dos Nutrientes	42
5 CONCLUSÕES	44
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
7 ANEXOS	53

1 INTRODUÇÃO

A importância do Agronegócio Cavalos na economia brasileira foi dimensionada por Lima (2006). O setor envolve mais de 30 segmentos, distribuídos entre insumos, criação e destinação final e compõe a base do chamado Complexo do Agronegócio Cavalos, sendo atualmente, responsável pela geração de 3,0 milhões de empregos diretos e indiretos, movimentando cerca de R\$ 16,0 bilhões de reais (BRASIL, 2016).

A dieta dos equinos é composta basicamente por forragens em pastagens e feno e, por cereais, oferecidos na forma de alimento concentrado balanceado. Os principais alimentos que compõem o concentrado dos equinos são: milho, aveia, trigo e farelo de soja, entre outros. Esses alimentos estão continuamente sujeitos a contaminação por fungos produtores de micotoxinas, seja antes, durante ou após a colheita, bem como no processo de armazenagem. As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos que causam efeito tóxico (micotoxicoses) quando ingerido por animais superiores. *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* são os agentes mais abundantes que produzem estas toxinas e podem contaminar alimentos para seres humanos e animais (KELLER, 2009).

No Brasil, diversas micotoxinas têm sido identificadas nos alimentos. Ainda, deve-se destacar a importância das aflatoxinas (AF), fumonisinas (FB), ocratoxinas (OTA), zearalenona (ZEA) e tricotecenos, não apenas pela ocorrência frequente, mas também pelo elevado potencial toxigênico, demonstrado nos animais de interesse zootécnico (BALDISSERA et al. 1993). Ressaltam-se, ainda, as perdas econômicas devido à ingestão de rações contaminadas com micotoxinas, sendo estimadas em US\$ 5 bilhões nos Estados Unidos e Canadá (BRASIL, 2006).

A legislação brasileira (BRASIL, 1988) estabelece para qualquer matéria prima a ser utilizada diretamente ou como ingrediente para rações destinadas ao consumo animal, um limite máximo para as aflatoxinas de 50 ppb e não determina limites para as demais micotoxinas. Para uso na alimentação humana, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da RDC número 7, de 18 de fevereiro de 2011, estabeleceu limites para as principais micotoxinas, sendo que os limites de fumonisinas para os derivados do milho são da ordem de 1,0 a 1,5 ppm (BRASIL, 2011). Muito embora apresentem reconhecida importância em saúde pública e na sanidade animal, não há uma regulamentação uniforme para os limites de micotoxinas nos diferentes países, em particular nos países do MERCOSUL (Brasil/Argentina). Esse fato reforça a necessidade do desenvolvimento de pesquisas sobre a avaliação toxicológica de micotoxinas nas espécies animais, principalmente em modelos *in vivo*, conforme recomendado pelo MAPA (BRASIL, 2006).

Acresce de importância a carência de literatura envolvendo o efeito das micotoxinas nessa espécie. Zachariasova et al. (2014) analisaram 343 amostras de alimentos e subprodutos para alimentação animal, utilizados na Europa e Reino Unido e verificou alta incidência de micotoxinas. Os alimentos mais afetados foram aqueles que não sofreram nenhum tipo de processamento ou industrialização. Para os autores é importante observar na avaliação de efeitos tóxicos das micotoxinas, não só informações sobre a ingestão de doses individuais, mas também ser considerado o seu potencial de sinergismo e interação, especialmente entre as aflatoxinas e outras micotoxinas, como as fumonisinas, ochratoxina A e tricotecenos. Raymond et al. (2005) destacaram que uma preocupação, especialmente para os equinos de esporte é que a ingestão crônica de baixos níveis de micotoxinas pode afetar o desempenho, sem, contudo, a apresentação de sintomas clínicos evidentes nos animais.

Apesar das micotoxinas apresentarem inúmeros efeitos adversos sobre a saúde animal, muito pouco se sabe sobre seus impactos na alimentação de equinos, indicando a necessidade

de estudos específicos para essa espécie (LIESENER et al. 2010). Geralmente, dados sobre a presença de micotoxinas nos alimentos destinados ao consumo equino são raros e, são restritos principalmente à fumonisina. Diante dos problemas sanitários e econômicos gerados pelas contaminações, é surpreendente que se tenha pouca informação disponível na literatura.

Estudos realizados por Liesener et al. (2010) avaliaram a presença de micotoxinas em 62 tipos distintos de alimentos concentrados fornecidos aos equinos e, observaram que, tanto na categoria de alimentos classificados como misturas de grãos (cevada, trigo, aveia e milho), quanto no grupo de alimento peletizado, não houve relação evidente entre a porcentagem de um determinado cereal com a presença de uma micotoxina específica. Entretanto, após analisarem os alimentos individualmente, observaram que as micotoxinas apresentam um perfil de distribuição específico e que o milho, dentre os cereais avaliados, foi o que apresentou maior susceptibilidade a contaminações com Desoxinivalenol (DON), Zearalenona (ZEA) e Fumonisina B₁ (FB₁), justificando a importância em desenvolver estudos para uma regulamentação específica no Brasil para os níveis seguros de micotoxinas no milho, quando este for fornecido para o consumo dos equinos.

Nesta pesquisa, os limites de aflatoxina B₁ (AFB₁) a serem testados são aqueles previstos pela legislação em vigor, uma vez que há um limite de 50 ppb para a AFB₁ no alimento, mas não há um limite quanto a quantidade de alimento a ser ingerida pelo animal, ou seja, um equino pode consumir 01 (um) kg de uma ração com 50 ppb de AFB₁, enquanto outro poderia consumir 5 (cinco) ou mais kg, com a mesma concentração. Do ponto de vista legal, as rações estão dentro dos parâmetros, mas o equino que consumir maior quantidade de ração estará, no final, ingerindo maior quantidade de micotoxinas, o que poderá, com o decorrer do tempo, causar reflexos na sua saúde e performance. A hipótese do estudo é que a presença de AFB₁ na dieta dos equinos, mesmo na concentração autorizada pela legislação brasileira para alimentação animal (50 ppb de AFB₁), em conjunto com outras micotoxinas influenciam negativamente no aproveitamento dos nutrientes, afeta o desempenho e compromete a sanidade dos equinos.

O objetivo geral do estudo foi o de verificar se a concentração da micotoxina aflatoxina B₁ (AFB₁) na dieta prevista na legislação em vigor e, em conjunto com outras micotoxinas, afeta a sanidade equina exercendo influência na digestão, no metabolismo e desempenho dos animais. Como objetivos específicos: i) verificar a influência da AFB₁, na concentração de 50 ppb, na sanidade equina; ii) verificar a presença de micotoxinas nos alimentos que compõem a dieta dos equinos; e iii) verificar a necessidade de aperfeiçoamento da legislação para micotoxinas na alimentação animal, em especial para a espécie equina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A indústria do cavalo movimenta mais de 30 segmentos a ela relacionados, gerando divisas, emprego e renda. Estudado por Lima et al. (2006) e por Oliveira et al. (2015), esse segmento do agronegócio tem mostrado franca expansão. Atualmente gera aproximadamente 3,0 milhões de empregos diretos e indiretos e movimenta cerca de R\$ 16,0 bilhões de reais (BRASIL, 2016). Apesar disso, muito há que ser estudado, ênfase pode ser dada a indústria da alimentação equina, seja na produção de rações comerciais, fenos e recentemente, óleos e aditivos.

Os alimentos que compõem a dieta dos equinos, composta por forragens e cereais, estão continuamente sujeitos a contaminação por fungos produtores de micotoxinas, em todas as fases do processo produtivo. Das *commodities* utilizadas na fabricação de alimentos para animais, o milho é a mais utilizada no Brasil e, é uma fonte de energia com boa relação custo/benefício nas dietas dos equinos que, geralmente, sofre intenso processamento industrial para garantir maior digestibilidade do amido. Devido a importância desse grão na alimentação animal, estudos relacionados à qualidade sanitária da matéria prima se intensificaram principalmente no que diz respeito a contaminações por micotoxinas. A preocupação se concentra no armazenamento dos grãos, isto porque, a deterioração do milho por fungos, com consequente produção de micotoxinas, ocorre em um ambiente influenciado pelo homem, no qual podem ocorrer alterações por interação entre fatores físicos, químicos e biológicos. Bryden (2012) esclareceu que os principais fatores físicos são a mistura de grãos, a umidade relativa do ar (URAr), a temperatura, danos mecânicos; os químicos são oxigênio, dióxido de carbono, pesticidas e fungicidas; os biológicos são o stress, a variedade da planta e a presença de insetos.

Keller (2009) analisou 60 amostras de diferentes rações comerciais, aveia e ração preparada na fazenda, coletadas de diferentes estabelecimentos hípicas localizados no Rio de Janeiro e Seropédica, entre junho de 2003 a junho de 2006 verificaram que os gêneros mais frequentemente isolados foram *Aspergillus* (43%), *Penicillium* (26%) e *Fusarium* (11%), sendo que os alimentos, aveia e ração batida apresentaram as maiores contagens. 75% das amostras apresentaram contaminação com FB1, com níveis de 0 a 8,5 ppm. Apenas duas amostras foram negativas para contaminação por AFB₁ com intervalo de 0,5 a 99,4 ppb. Os autores recomendam estabelecer limites máximos de contagens fúngicas para espécies potenciais produtoras de aflatoxinas (AFs) e fumonisinas (FBs) na alimentação dos equídeos.

Segundo Chulze et al. (2010) os principais fungos e micotoxinas associados a contaminações do milho são o *Aspergillus flavus* que produz aflatoxina; *Fusarium verticillioides* e *F. proliferatum* que produzem as fusariotoxinas, como tricotecenos, zearalenona e fumonisinas. Nesse sentido, os equinos tornam-se vulneráveis à intoxicação por aflatoxinas e, principalmente, às fumonisinas (FINK-GREMMLES; SPRONK, 2013), pois, dentre os herbívoros, os equinos são mais susceptíveis quando comparados aos ruminantes. Isto ocorre porque nos ruminantes, uma vez que o alimento contaminado chega ao rúmen, a microbiota atua como uma barreira de proteção contra os metabolitos tóxicos produzidos pelas plantas e micotoxinas. Já os equinos possuem o intestino delgado como o local primário de absorção de compostos xenobióticos, anterior ao processo fermentativo, tornando-os mais sujeitos que os ruminantes a intoxicações por alimentos contaminados (FINK-GREMMLES; SPRONK, 2013).

Em revisão realizada por Caloni; Cortinovis, (2010), observaram que uma estação úmida seguida por um período de baixa temperatura, aumenta a probabilidade do *Fusarium* e suas micotoxinas estarem presentes nos grãos. A alta umidade favorece o crescimento do fungo, enquanto que baixas temperaturas, a produção de micotoxinas. O *Fusarium* spp requerem um teor de umidade de 25% e sua toxigenese é estritamente influenciada pela

temperatura e atividade de água (Aa). Os autores ressaltam que as micotoxinas do *Fusarium* são capazes de induzir tanto efeitos agudos, como crônicos. Os efeitos observados estão relacionadas com níveis da dose e a duração da exposição. A ocorrência simultânea de *Fusarium* micotoxinas, como o desoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA) é uma questão importante a ser observada, devido a suas implicações sobre a saúde e o bem-estar animal.

2.1 Micotoxinas e Micotoxicoses

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos dos generos *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Claviceps* que causam um efeito tóxico (micotoxicoses) quando ingerido por animais superiores. Fumagali et al. (2008) relataram que esses metabólitos aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas com este fim como, por exemplo, podem atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger o fungo ou a planta dos patógenos, além de apresentar atividades antigerminativas ou tóxicas para outras espécies.

As micotoxicoses são caracterizadas por síndromes difusas, porém com predomínio de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins, tecido epitelial e sistema nervoso central, dependendo do tipo de toxina. É possível a ocorrência simultânea de duas ou mais micotoxinas em determinado substrato e, normalmente, apresentam efeito sinérgico aumentando o risco em relação à saúde e a sanidade animal (BINDER, 2007; KELLER, 2009; ZACHARIASOVA et al., 2014). As principais micotoxinas na alimentação dos equinos, sua origem e efeitos clínicos no cavalo, estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1- Principais micotoxinas na alimentação dos equinos, sua origem e efeitos clínicos

Micotoxina	Fungo	Efeitos clínicos	Toxina/metabolito envolvido
Aflatoxina	<i>Aspergillus spp</i>	Efeitos hepatotóxicos, depressão, anorexia, imunossupressão.	Aflatoxina B1 (B2, G1, G2)
Fumonisina	<i>Fusarium verticilloides</i>	Leucoencefalomálacia equina, desordem hepática e cardiovascular	Fumonisina B1 (B2, B3)
Tricotecenos	<i>Fusarium spp.</i>	Ativação dopaminérgica do SNC, efeito citotóxico direto, cólicas e desordem gastrointestinal.	Deoxynivalenol, Nivalenol, Toxina T-2
Zearalenona	<i>Fusarium spp.</i>	Ativação dos receptores de estrógeno, desordens reprodutivas.	Zearalenona, α -ZOL (β -ZOL)
Alcalóide de indolizidina	<i>Rhizoctonia leguminicola</i>	Ativação colinérgica, efeitos parassimpaticomiméticos, particularmente salivacão excessiva.	Slaframina, swainsonina

Adaptado de Vendrig; Fink-Gremmels (2014).

2.2 Aflatoxinas

Aflatoxinas (AFs) são micotoxinas produzidas por *Aspergillus flavus* ou *A. parasiticus* durante o cultivo e no armazenamento de cereais. Atualmente são conhecidos 17 compostos similares designados por aflatoxinas, porém os principais tipos identificados são B1, B2, G1 e G2. As aflatoxinas são consideradas as mais potentes substâncias carcinogênicas conhecidas e

a aflatoxina B₁ (AFB₁) é a principal substância hepatocarcinogênica em animais, sendo classificada pela Agência Internacional para Pesquisa do Cancer (IARC) na classe 1B (carcinogenico para humanos). Seus efeitos variam de acordo com espécie, idade, sexo e condições gerais nutricionais (WHO, 1993; BINDER, 2007). As aflatoxinas causam uma série de alterações metabólicas, estando associadas com danos hepáticos, redução das enzimas digestivas e imunossupressão. Esses efeitos podem ocorrer sob baixos níveis e tempo prolongado de exposição, resultando em sérias ameaças para a saúde humana e animal, uma vez que os sintomas relacionados com as aflatoxicoses podem estar ausentes ou mesmo serem imperceptíveis. (GLAHN et al. 1994; GIACOMINI et al. 2006; SALIM et al. 2011).

As aflatoxinas são insolúveis em água e resistentes a altas temperaturas. São componentes lipossolúveis facilmente absorvidas pelo sistema gastrointestinal. Depois de absorvidas são transportadas pela albumina sérica e distribuídas pelo organismo e podem ser encontradas nos músculos, rins e tecido adiposo. Muitas destas toxinas são removidas do sangue no fígado, onde, dentro dos hepatócitos, ligam-se a macromoléculas como DNA; sites de esteroides endoplasmáticos e a certas enzimas. No fígado, são produzidos uma variedade de metabólitos, cujas taxas variam de acordo com as espécies. Os metabólitos podem ser conjugados lipo ou hidrosolúveis e são excretados através da bile. As aflatoxinas e seus metabólitos são excretados na urina e fezes, e a completa eliminação pode levar vários dias (REED et al. 2004). As maiores concentrações de AFB₁ são encontradas no fígado, onde é metabolizada, produzindo um composto tóxico e prejudicial a AFB₁- epóxido (HAUSCHLID, 2007). A AFB₁ 8,9-epóxido reage com DNA para formar um persistente aducto. Desta forma, a AFB₁ inibe a síntese de proteínas e a formação das enzimas necessárias para o metabolismo energético e para a mobilização das gorduras (CALONI; CORTINOVIS, 2011).

Reed et al. (2004) esclareceram que aflatoxicoses agudas e crônicas são relatadas em uma variedade de espécies animais, incluindo seres humanos. No entanto, relatos clínicos de equinos doentes estão relacionados à intoxicação aguda. A DL₅₀ oral, aguda, de aflatoxina B₁ para cavalos é maior que 2,0 ppm. Os autores citaram danos hepáticos e transtornos gastrointestinais em equinos que consumiram alimentos contendo de 2 a 50 ppb de AFB₁ e relataram que a toxicidade das aflatoxinas pode ser aumentada pela riboflavina, exposição à luz e por dietas baixas em proteínas, colina e vitamina B12.

De acordo com os autores, os sinais clínicos relacionados a uma intoxicação aguda de aflatoxina incluem anorexia, temperatura elevada, aumento dos batimentos cardíacos e da taxa respiratória, ataxia, depressão, letargia, convulsão, icterícia, sangue nas fezes, cólica e morte. Estes sinais foram observados em cavalos intoxicados experimentalmente com dosagens de 2 a 5 ppm. Os sinais começam cerca de 4 horas após a dosagem e as mortes ocorrem de 68 horas a 32 dias após a intoxicação. Relatam, também, que a concentração de AFB₁ no alimento necessária para causar uma intoxicação crônica em cavalos não está bem estabelecida. Sinais de intoxicação crônica em outras espécies incluem redução da eficiência alimentar, anemia, anorexia e ocasionalmente aborto.

De acordo com Reed et al. (2004) a hepatotoxicidade das aflatoxinas está relacionada da sua capacidade de ligar-se as macromoléculas intracelulares. A AFB₁ liga-se ao DNA nuclear e inibe a síntese de RNA, e subsequentemente inibe a síntese de enzimas e outras proteínas. As aflatoxinas também se ligam aos ribossomos endoplasmáticos, resultando em desagregação ribossomal. Metabólitos de AFB₁ podem se ligar a macromoléculas celulares e muitos dos efeitos citotóxicos da AFB₁ são resultados dessas ligações que propriamente da própria da ação da micotoxina. Segundo Berg et al. (2002) no processo natural de detoxificação, alguns componentes são convertidos por enzimas em substancias com atividade altamente mutagênica. A enzima *Citocromo P450* converte a aflatoxina B₁ em um epóxido altamente reativo, capaz de reagir com N-7 átomo da guanosina para formar um aducto que

frequentemente leva a transversoão da Guanina-Citosina (G-C) em Timina-Adenina (T-A), ocasionando mutaçoões celulares (Figura 1).

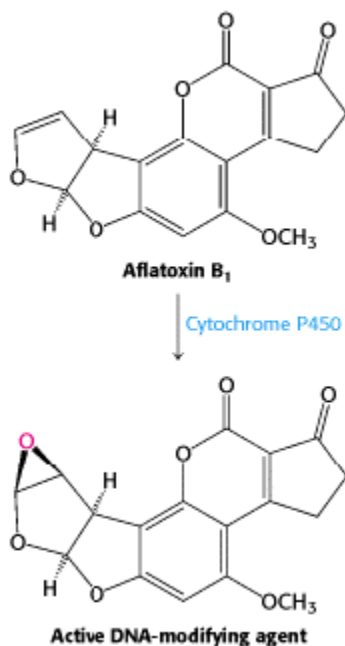


Figura 1 – No processo de detoxificaçoão a aflatoxina B₁ é ativada pela enzima *Citocromo* P450 para uma forma altamente reativa, capaz de modificar bases nitrogenadas como a Guanina no DNA, levando a mutaçoões. Adaptado de Berg et al. (2002).

Morte de equinos tem sido relatadas em intoxicaçoões a campo e experimentais. Vesonder et al. (1991) relataram que trēs equinos morreram e outros ficaram doentes após a ingestão de milho contaminado com 114, 10 e 6 ppb de aflatoxina B₁, B₂ e M₁, respectivamente. À necropsia revelou intensa necrose hepática, sugestivo de contaminaçoão por aflatoxina. O exame micológico do milho revelou 95% das colônias como *Aspergillus flavus*. De acordo com Reed et al. (2004) intoxicaçoões experimentais em equinos com aflatoxinas ocasionaram elevaçoão das concentraçoões séricas de aspartato transferase (AST), alanina aminotransfrase, gama glutamil transferase (GGT), iditiol desidrogenase e arginase. Outras anormalidades incluem hipoglicemia, hiperlipidemia, linfopenia e elevaçoão das proteínas.

Caloni; Cortinovic (2011), em revisão sobre intoxicaçoões experimentais por AFB₁ em equinos relataram que, embora inconclusivas, as aflatoxicoses podem ocorrer com concentraçoões entre 0,5 e 1,0 mg/kg na matéria natural da dieta total, as quais induzem mudanças clínicas e danos hepáticos, dependendo do tempo de exposiçoão. O fígado é órgão alvo em todos os animais afetados, onde a toxina induz a necrose centrolobular. Os cavalos sofrem com a aflatoxicoses evidenciando sinais clínicos inespecíficos, como tosse, inapetência, depressão, febre, tremor e ataxia.

2.3 Fusariotoxinas

Fusariotoxinas são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium* spp, que contaminam uma grande variedade de alimentos incluindo cereais e feno, por todo o mundo. Surtos espontâneos de *Fusarium* micotoxicoses têm sido reportados em todos os continentes. As fusariotoxinas incluem a zearalenona, a fumonisina e os tricotecenos (CALONI; CORTINOVIS, 2010).

A Zearalenona é uma fusariotoxina que ocorre naturalmente em milho, cevada, aveia, feno e sorgo. Sua ocorrência é favorecida por alta umidade e baixas temperaturas. Para a formação de quantidades significativas de ZEA são necessárias temperaturas entre 12 e 14° C, mas pode ocorrer abaixo de 10° C e até em temperaturas abaixo de 0 °C.

A ZEA se liga aos receptores de estrógeno celulares, ativando o gene da transcrição. Como resposta clínica, ocorre o alargamento do útero, prolapso vaginal e retal, aborto e infertilidade, sendo o suíno a espécie mais susceptível. (CALONI; CORTINOVIS, 2010). Gimeno e Quintanilla (1983) relataram surtos naturais em equinos consumindo alimentos contendo aproximadamente 2,7 ppm de ZEA na matéria natural. As éguas expostas recusaram o alimento, apresentaram edema de vulva, prolapso vaginal e flacidez severa da genitália.

Os tricotecenos são metabólitos produzidos por várias espécies de fungos do gênero *Fusarium*, o qual necessita de condições de alta umidade e baixas temperaturas para a toxigênese. Os tricotecenos são divididos, com base na sua estruturas químicas em quatro grupos. Desoxinivalenol (DON), também conhecido como vomitoxina, nivalenol, micotoxina (T-2) e diacetoxiscirpenol (DAS) são os tricotecenos que co-ocorrem mais frequentemente em alimentos (PLACINTA et al. 1999). As principais fontes de tricotecenos são grãos de cereais, tais como milho, trigo, centeio e aveia contaminados. Um dos primeiros sinais observáveis em suínos é a recusa do alimento e a perda de peso. A exposição aos tricotecenos nessa espécie induz a anorexia, letargia, sonolência e ataxia e possivelmente a diminuição da função imune. Os autores relatam a diminuição da resistência aos microrganismos infecciosos, como vírus e bactérias. Em comparação com outras espécies, informações relacionadas com os efeitos destas micotoxinas em equino é escassa e inconsistente. Cavalos alimentados durante 40 dias, com cevada naturalmente contaminada com DON entre 36 e 44 ppm, não apresentaram efeitos, tais como recusa de alimento ou alteração da bioquímica e hematologia sanguínea, sugerindo que assim como os ruminantes, os cavalos são relativamente resistentes aos efeitos adversos da DON (CALONI ; CORTINOVIS, 2011; CORTINOVIS et al. 2012).

Cortinovis et al. (2012) analisaram 72 amostras de matérias-primas para alimentação de equinos de criatórios situados no norte da Itália, quanto a presença de desoxinivalenol (DON) e da toxina T-2, utilizando o método ELISA. DON foi detectado em 38,9% das amostras testadas, a níveis entre 0,2 e 1,9 mg/kg, sendo as maiores concentrações observadas no milho. A toxina T-2 foi encontrada no milho e farelo de arroz em níveis que variaram de 12-102 mg/kg, com uma incidência global de 12,3% nas amostras analisadas. Nessas amostras, a toxina T-2 foi encontrada apenas em combinação com DON. Os autores relataram quanto a presença de DON, que embora os níveis detectados não sejam elevados, a exposição a longo prazo pode representar uma ameaça para a saúde do cavalo.

Raymond et al. (2005) verificaram a performance de equinos ao exercício alimentados durante 21 dias com rações contaminadas com fusariotoxinas. As rações continham até 11 ppm de DON e 0,8 ppm de ZEA e, os autores não observaram alterações na hematologia e bioquímica sérica, embora tenha ocorrido diminuição do consumo e perda de peso, variáveis que podem influenciar na resposta ao exercício.

As fumonisinas são micotoxinas produzidas por fungos dos generos *Fusarium verticillioides* e *F. proliferatum* e são naturalmente contaminantes dos cereais, mais comumente do milho e derivados. As fumonisinas mais comuns são a B1 (FB₁), FB₂ e FB₃ que tem ocorrência natural em níveis significativos nos produtos a base de milho e derivados destinados a alimentação humana e animal, em vários países do mundo. A FB₁ é a mais comum e a mais tóxica, sendo, portanto, a mais estudada do ponto de vista toxicológico. FB₂, e FB₃ são, nessa ordem, menos frequentes e diferem estruturalmente da FB₁ no número e na localização do grupo hidroxila na molécula base de hidrocarboneto. A similaridade estrutural das fumonisinas com a base dos esfingoides; esfinganina (Sa) e esfingosina (So) compromete a formação dos esfingolípídios (MERRIL et al. 2001; SORIANO et al. 2005).

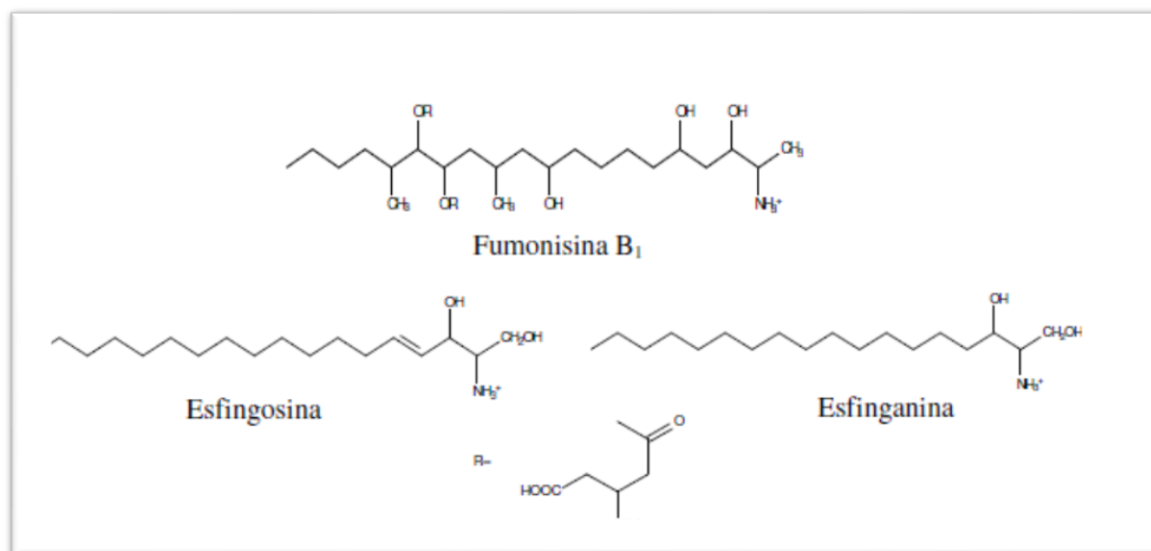


Figura 2 - Similaridade estrutural entre a fumonisina B₁ e as bases precursoras dos esfingolípídios (esfingosina e esfinganina). Adaptado de Wang et al. (1991).

Estudos conduzidos por Wang et al. (1991) evidenciaram que a fumonisina B₁ atua na reação catalizada pela *esfingosina N-aciltransferase (ceramida sintetase)*, inibindo a conversão da esfinganina para N-acil esfinganina, reação necessária para a formação da esfingosina, base dos esfingolípídios. Como resultado ocorre acúmulo de esfinganina celular. A esfinganina é conhecida por ser uma molécula altamente bioativa, capaz de inibir as proteínas quinases celulares, o transporte de íons e várias enzimas. Dessa forma, a destruição da função de barreira endotelial celular pode ser devido ao acúmulo de esfinganina (RAMASANY et al. 1995). Estudos realizados com hepatócitos de roedores demonstraram que as fumonisinas bloqueiam a formação de esfingolípídios. Essa interrupção provoca um acúmulo de esfinganina (Sa) e esfingosina (So) e constitui o mecanismo pelo qual se manifestam os efeitos de toxicidade aguda e carcinogenicidade das fumonisinas. Os esfingolípídios são importantes para a manutenção da integridade da membrana celular, além de regulação de receptores de superfície celular, bombas de íons e outros sistemas vitais para o funcionamento e sobrevivência da célula (RAMASAMY et al 1995). A exposição dos animais as fumonisinas causam alterações no metabolismo dos esfingolípídios em muitos tecidos, no soro e em menor grau na urina, evidenciadas por mudança na taxa de esfinganina (Sa) e esfingosina (So). Essas alterações ocorrem muito rapidamente e com baixos níveis de exposição. Dessa forma, a taxa Sa/So pode ser usada como biomarcadores para diagnóstico de exposição às fumonisinas. (SORIANO et al. 2005; VOSS et al. 2007). As fumonisinas B₁ e B₂ são pouco absorvidas no trato gastrointestinal, rapidamente excretadas e pouco acumuladas nos tecidos, embora pequenas quantidades sejam encontradas no fígado e rins. Apesar da baixa absorção, ocorre circulação entero-hepática, sendo excretadas pela bile (SHEPARD et al. 1995; SORIANO et al. 2005; VOSS et al. 2007).

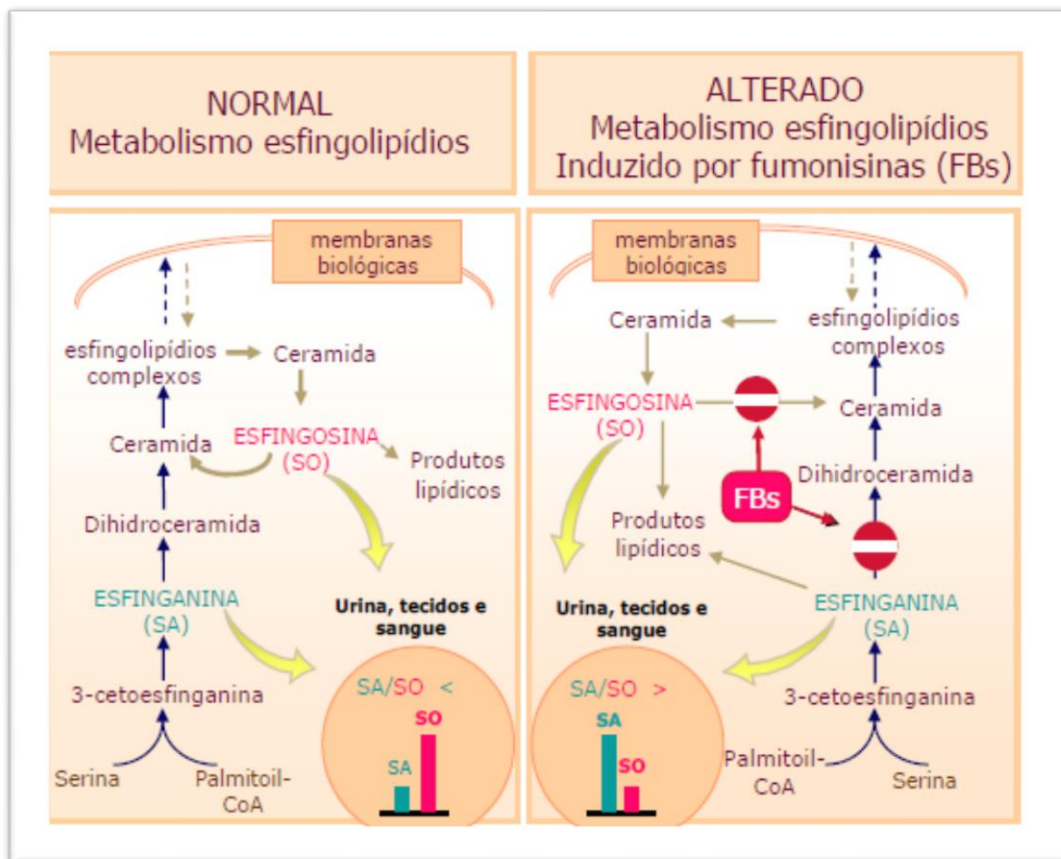


Figura 3 - Mecanismo de ação das Fumonisinas, adaptado de Keller (2009).

2.4 Leucoencefalomalácea

Em equinos, as micotoxicoses estão relacionadas com rações a base de milho contaminado por Fumonisinas (FB), produzidas por *Fusarium* sp. Estas micotoxinas produzem uma doença neurológica aguda e fatal, caracterizada por sintomas neurotóxicos, a Leucoencefalomalácea equina ou LEME (THIEL et al. 1991; KELLER, 2009). Atualmente, 28 estruturas moleculares são conhecidas pelo termo fumonisina, porém a toxina predominante produzida pela linhagem de *Fusarium verticillioides* é a fumonisina B₁ (FB₁). Os equinos, entre as espécies animais estudados, são os mais sensíveis a FB₁ e os primeiros sinais clínicos podem ser observados a partir de concentrações > 10mg/kg no alimento (FINK-GREMMLES; SPRONK, 2013).

Para Reed et al. (2004) alimentos contendo concentrações superiores a 10 mg/kg de fumonisina são fatais para equinos. Ross et al. (1991) analisaram amostras de alimentos associados a 45 casos confirmados de surtos de LEME, ocorridos em várias regiões dos Estados Unidos, observaram contaminação com FB₁, com níveis variando entre 1 a 126 ppm. A maioria das amostras apresentaram níveis acima de 10 ppm. A concentração de FB₂ foi de 20 a 40% da FB₁. A duração média dos surtos variou de 7 a 35 dias, com baixa morbidade e alta mortalidade.

Em reprodução experimental da LEME em equino que recebeu 0,125 mg/kg de peso vivo de FB₁ purificada, por via endovenosa, durante nove dias (dose total de 276 mg), Marasas et al. (1998) observaram sinais clínicos da micotoxicose após o 8º dia evidenciados como apatia, tremores musculares, paresia do lábio inferior e da língua, convulsões tetânicas e

morte. À necropsia, foram observados edema cerebral acentuado e necrose da medula oblonga. Em análise do soro sanguíneo, os autores observaram pequena elevação das enzimas aspartato transferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT).

Salles-Gomes et al. (2003) relatam surto de LEME em um estabelecimento hípico localizado em Brasília - D.F, no ano de 1994, onde dos 58 animais acometidos, 41 vieram a óbito. Os sinais clínicos apresentados foram depressão sensorial e inapetência seguida de perda da acuidade visual, incoordenação motora, cabeça pendida para um dos lados, incapacidade de mastigação e deglutição, mioclonismo dos masseteres e movimentos de pedagem. Ao exame histológico verificou-se degeneração intensa da substância branca e tumefação da massa cerebral. A análise dos alimentos envolvidos (concentrado balanceado) verificou-se níveis de FB₁ entre 5 e 10ppm.

Duas síndromes clínicas estão associadas à intoxicação relacionada ao consumo de milho contaminado com fumonisina B₁. A mais comum é a síndrome neurotóxica ou LEME, mas em alguns cavalos pode ocorrer a síndrome hepatotóxica. Estas síndromes podem ocorrer de forma independente ou concorrente. A exposição do cavalo a altas doses de fumonisina aumenta a probabilidade da síndrome hepatotóxica. Baixas doses favorecem a forma neurotóxica, sendo esta a mais frequentemente. O curso clínico da LEME é geralmente curto com início dos sinais, seguido por morte dentro de horas ou dias. Os animais mais velhos são mais susceptíveis que os jovens e os sinais clínicos podem ocorrer entre 3 a 4 semanas após a ingestão de alimentos contaminados. O começo dos sinais clínicos é tipicamente abrupto e a morte ocorre entre 2 e 3 dias (REED et al. 2004; VOSS et al. 2007).

Santos et al. (2013) analisando um surto de LEME em equídeos da região leste do Mato Grosso, observaram índices de mortalidade entre 12,5 a 71,42% e letalidade de 100%. O autor verificou que a maior incidência ocorreu nos animais adultos (80%) em relação aos animais jovens (20%). Nos dez casos da doença, a forma de maior cronicidade, foi verificada nos potros (2/20%) com nove meses de idade, com curso clínico de dez (1/10%) a vinte e nove dias (1/10%). Diferente dos animais adultos que apresentaram curso variando de 24 h ao máximo de 48 h (3/30%) ou mesmo morte súbita (5/50%). Ambas as categorias (jovens e adultos) receberam a mesma suplementação e os níveis observados foram de 6,6 mg/kg de fumonisina no concentrado equino.

Em estudo realizado com pôneis, alimentados durante 10 dias com dietas contendo 44 ppm de FB₁, Wang et al. (1992) observaram aumento de cerca de 2,7 vezes no nível de esfinganina. O aumento das enzimas séricas ocorreu após 10 dias de alimentação, indicando que os níveis de esfinganina e esfingosina podem ser utilizados como marcadores da exposição animal a fumonisina. Kaneko et al. (2008) relataram que a intoxicação crônica de suínos com fumonisinas está associada com a elevação da bilirrubina sérica total, ALP, AST, GGT e colesterol. Essas toxinas são capazes de inibir a enzima N-acetil transferase resultando na perda do complexo esfingolipídio e acúmulo da esfinganina e esfingosina nos tecidos e plasma.

Sydenham et al. (1992) - 1º relato de fumonisinas no Brasil - analisando 21 amostras de milho e subprodutos associados com casos suspeitos e confirmados de micotoxicoses, em fazendas do Estado do Paraná, coletadas no período de julho/85 a outubro/90, verificou que a totalidade das amostras estavam contaminadas com níveis detectáveis de FB₁ e FB₂, com exceção de uma amostra que não continha toxina e de duas que não detectou FB₂. Os níveis de FB₁ nas amostras foram mais altos que a FB₂. Dos 21 casos de micotoxicoses descritos, 12 estavam relacionados à LEME. Nesses casos os níveis de fumonisinas encontrados foram de 0,2 a 38,5 ppm para a FB₁ e 0,1 a 12 ppm de FB₂, com concentração média de 12 e 4,1 ppm, respectivamente. Essas médias foram similares aquelas encontradas por Thiel et al. (1991) nos EUA, com concentração média de 7,7 ppm de FB₁ e 3,1ppm de FB₂. Nessas análises a FB₁ foi a mais produzida, correspondendo a 60 e 93% da % determinada nos alimentos. Em 98

amostras de alimentos associados a 45 casos de LEME, em várias localidades do EUA, Ross et al. (1991) observaram concentrações de FB₁ entre 1 e 126 ppm, com a maioria das amostras acima de 10 ppm. Esses dados sugerem que alimentos com concentrações de FB₁ acima de 10 ppm não são seguros para os equinos.

2.5 Limites legais

A Legislação Brasileira, BRASIL (1988) estabelece para qualquer matéria prima a ser utilizada diretamente ou como ingrediente para rações destinadas ao consumo animal, um limite máximo para as aflatoxinas de 50 ppb.

Essa legislação, entretanto, não é uniforme. O MERCOSUL através da Resolução nº 25 de 2002, estabeleceu limites para as aflatoxinas no milho em grão e derivados, de no máximo 20 ppb. Na Argentina, a legislação limita a AFB₁ para milho e subprodutos, em 5 ppb e para o somatório das aflatoxinas (B₁, B₂, G₁, G₂), o máximo de 20 ppb. Acresce de importância que o limite estabelecido pela comunidade europeia para as matérias primas para rações é de 50 ppb para AFB₁ e para concentrados prontos para consumo é de 10 ppb. Limite inferior ao utilizado no Brasil. Ressalta-se, todavia, que cada país da Comunidade Econômica Europeia (CEE) possui uma legislação própria para as micotoxinas, com limites muitas vezes inferiores aqueles estabelecidos pela CEE.

A CEE, em sua Diretiva nº 32 de 7/05/02 (UNIÃO EUROPÉIA, 2002), relativa as substancias indesejáveis nos alimentos para animais, considerando em seu artigo 7º que “impossível eliminar totalmente a presença de substâncias indesejáveis, mas é importante que a sua concentração em produtos destinados à alimentação animal seja reduzida, tendo em vista a toxicidade aguda da substância, a sua capacidade de bioacumulação e de degradação e provocar efeitos indesejáveis e prejudiciais”, estabelece para AFB₁, um limite de 20 ppb, para o milho e seus subprodutos destinados a alimentação animal.

A CEE (UNIÃO EUROPÉIA, 2003) considerando que a aflatoxina B₁ é uma substância cancerígena genotóxica, detectada no leite sob a forma do seu metabolito aflatoxina M1 destaca a conveniência de manter os teores máximos de aflatoxina tão baixos quanto razoavelmente possível para proteger a saúde pública. Práticas corretas de manipulação e secagem podem manter baixos os teores de aflatoxina nas diferentes matérias-primas para a alimentação animal, existindo processos de descontaminação eficazes destinados a reduzir os teores de AFB₁. É conveniente que o mesmo teor máximo de AFB₁ seja aplicável a todas as matérias-primas para a alimentação animal.

De acordo com comunicado do Departamento Federal de Economia da Suíça (SUISSE, 2008), os limites máximos, recomendados pela CEE, para fumonisinas nas rações com 88% de matéria seca, é de 5mg/kg para suínos; 20 mg/kg para frangos e bovinos jovens e de 50 mg/kg para bovinos adultos e vacas leiteiras, não havendo referências para equinos. Todavia, Zachariasova et al. (2014) ressaltaram que das mais de 300 micotoxinas conhecidas atualmente, somente cinco delas (aflatoxina B₁, fumonisinas, desoxinivalenol, zearalenona e ochratoxina A) são reguladas pela legislação europeia para a alimentação animal (Tabela 2).

Tabela 2 – Recomendação da União Europeia sobre valores máximos de micotoxinas nos produtos destinados a alimentação animal¹.

Micotoxina	Matérias-primas para alimentação animal	Limite mg/kg (ppm) ²
Desoxinivalenol (DON)	Cereais e produtos à base de cereais com exceção dos subprodutos do milho	8
	Subprodutos do milho	12
Zearalenona (ZEA)	Cereais e produtos à base de cereais com exceção dos subprodutos do milho	2
	Subprodutos do milho	3
Fumonisinias (B1 + B2)	Milho e produtos à base de milho.	60
	Alimentos complementares e alimentos completos para equino e outros equídeos, coelhos, animais pet, suínos	5

¹Recomendação da Comissão Europeia, de 17/08/06 (União Europeia, 2006); ²Teor de umidade de 12%

O *Food and Drug Administration* (USFDA, 2001), recomenda um limite máximo de 5 ppm para fumonisina no milho e subprodutos derivados. Ressalta, entretanto, que para a dieta total do equino esse valor não pode exceder 20%, totalizando, no máximo 1 ppm de fumonisina. No Brasil, não há regulamentação específica para as fumonisinas. A legislação militar estabelece um limite máximo de 5 ppm para as rações equinas, desde que não exceda 20% da dieta total do animal (BRASIL, 2012) (Tabela 3).

Tabela 3 – Fumonisinias total (FB1 + FB2 + FB3) na dieta total das várias espécies¹.

Espécie animal	Fator alimentar ²	Fumonisinias total máx (ppm)	
		Milho e subprodutos do milho na dieta	Dieta total
Equídeos	0,2	5	1
Ruminantes ³			
Lactação	0,5	30	15
Reprodução	0,5	30	15

(1) Adaptado de US Food and Drug Administration (USFDA, 2001);

(2) % de milho ou subprodutos do milho na ração total;

(3) Inclui bovinos, ovinos, caprinos e outros ruminantes;

É importante ressaltar, que embora não estabeleça limites para a maioria das micotoxinas, o MAPA, por meio da Instrução Normativa N° 4 (BRASIL, 2007), determinou que “O estabelecimento não deve aceitar nenhuma matéria prima ou ingrediente que contenha parasitas, microrganismos, substâncias tóxicas ou estranhas, que não possam ser reduzidas a níveis aceitáveis na industrialização. O produto final deve atender os padrões de identidade e qualidade específicos” e “o estabelecimento deve garantir a origem, qualidade e inocuidade da matéria-prima, ingrediente e embalagem” (BRASIL, 2007).

2.6 Perfil Bioquímico Sanguíneo

O perfil bioquímico do plasma é utilizado como indicador dos processos adaptativos do organismo, do metabolismo energético, proteico e mineral, além de oferecer informações sobre as condições do funcionamento hepático e renal (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). De acordo com os autores, quanto ao metabolismo energético são considerados os níveis sanguíneos de glicose, colesterol e ácidos graxos livres. No proteico, os níveis de proteína totais, albumina e globulinas. No perfil metabólico, inclui-se o quadro hemático, para avaliar anemias, desidratação e processos infecciosos, bem como as enzimas e outros metabólitos que permitam avaliar o funcionamento hepático e renal. Para a função hepática, utiliza-se como indicadores metabólitos o colesterol, a albumina e enzimas como a asparato aminotransferase (AST), γ -glutamil transferase (GGT), lactato desidrogenase (LDH) e a sorbitol desidrogenase (SDH). Como indicadores da função renal são quantificados a ureia e a creatinina.

2.6.1 Proteínas totais

As proteínas são o mais abundante componente do plasma, podendo chegar a 60 a 70 g/l. As principais proteínas plasmáticas são a albumina, globulinas e fibrinogênio. Estão envolvidas em múltiplas funções; manutenção da pressão osmótica e da viscosidade do sangue; transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção; regulação do pH sanguíneo e participação na coagulação sanguínea. As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, com os níveis de proteína na dieta e com a funcionalidade hepática. A concentração de proteínas totais pode estar aumentada na desidratação por hemoconcentração. Animais mais velhos apresentam teores de proteínas totais mais elevados, especialmente a fração gama das globulinas. A diminuição ocorre nas falhas hepáticas, transtornos intestinais e renais, nas hemorragias ou por deficiência na alimentação (GONZALEZ; SILVA, 2006).

2.6.2 Albumina e globulina

A albumina é sintetizada no fígado e contribui com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo. Constitui-se numa importante reserva proteica, além de atuar no transporte de aminoácidos, metais e bilirrubina. A concentração de albumina é afetada pelo funcionamento hepático, pela disponibilidade de aminoácidos, por perdas durante doenças e pelo equilíbrio hidroeletrólítico. O aumento de albumina está relacionado a desidratação e sua diminuição ocorre no parasitismo, no dano hepático crônico e no déficit alimentar de proteínas. (GONZALEZ; SILVA, 2006). A concentração de globulinas é obtida pela diferença de concentração entre proteínas totais e a albumina. Podem ser divididas em três grupos α , β e γ . Estão envolvidas no transporte de metais, lipídios e bilirrubina, bem como papel na imunidade (fração γ). As globulinas são importantes indicadoras de processo inflamatório. Mudanças na concentração de globulinas geralmente refletem uma inflamação ou doença, embora a hidratação possa impactar a concentração de globulinas (GONZALEZ; SILVA, 2006; KINGSTON, 2008). Kaneko et al. (2008) ressaltam uma correlação negativa entre a concentração de albuminas e globulinas. Em um processo infeccioso agudo ou crônico, pode ocorrer um aumento das globulinas e inibição da síntese da albumina no fígado como mecanismo compensatório para manter constante o nível proteico total e a pressão osmótica sanguínea. Por outro lado, numa disfunção hepática, o nível de albumina cai e o de globulinas aumenta. Sob o ponto de vista clínico, uma variação na taxa entre albumina/globulinas é mais importante que a proteína total, pois esta tende a permanecer constante.

2.6.3 Uréia e creatinina

A ureia e a creatinina são importantes indicadores da função renal (KERR, 2002). A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo de aminoácidos e da reciclagem de amônio do intestino grosso (ruminantes) e excretada pelos rins. Os níveis de ureia são analisados em relação ao nível de proteína na dieta e ao funcionamento renal. Podem estar aumentados com a idade ou com dietas ricas em proteínas e por fontes de Nitrogênio Não Proteico (NNP) ou em casos de falência renal (KERR, 2002).

A creatinina plasmática é um composto nitrogenado resultante da degradação da creatina e da fosfocreatina presente no tecido muscular esquelético (KERR, 2002). Aproximadamente 95 % da fosfocreatina está contida no músculo esquelético e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante, próximo de 2% do total de creatina, diariamente. A excreção de creatinina ocorre por via renal, não sendo reabsorvida ou reaproveitada pelo organismo. Desta forma, os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, sendo que altos níveis de creatinina indicam uma deficiência na funcionalidade renal. (GONZALEZ ; SILVA, 2006; KANEKO et al. 2008). De acordo com Coles (1984), as concentrações séricas normais de creatinina são da ordem de 1,0 a 1,9 mg/dL e de uréia entre 10,0 e 20,0 mg/ dL. Doretto et al. (2007) analisando 163 amostras de soro sanguíneo de equinos de ambos os sexos e clinicamente sadios, encontraram valores séricos de $1,67 \pm 0,21$ mg/dL de creatinina e $41,79 \pm 10,77$ de ureia.

2.6.4 Glicose e lactato

Carboidratos na forma de glicose constituem a principal fonte de energia para a célula animal, sendo vital para funções como o metabolismo do cérebro. A glicose passa por uma série de reações intermediárias fosforiladas até ser oxidada a CO_2 e H_2O . O nível de glicose tem poucas variações em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes no organismo, os quais envolvem o controle endócrino. Segundo Kerr, (2002) a concentração de glicose pode aumentar no stress crônico e em até 15 mmol/l, imediatamente após o exercício devido a descarga de adrenalina. Cavalos subalimentados apresentam, com frequência, hipoglicemia e hiperlipemia. A mobilização de lipídios nessa espécie pode ser excessiva, podendo ocasionar danos hepáticos, muitas vezes, fatal (GONZALEZ; SILVA, 2006). Kingston (2008) relata que o fluxo de glicose do sangue para o músculo e subsequentemente para a mitocôndria fornece uma pequena quantidade (<10%) da energia usada durante exercício intenso, provavelmente devido as limitações na taxa de transporte desses componentes durante o exercício.

O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o produto final da glicólise anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio, o ácido pirúvico entra no Ciclo de Krebs, gerando CO_2 e H_2O e energia. Em condições de anaerobiose, como na atividade física intensa ou prolongada, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico, em reação intermediada pela enzima Lactato desidrogenase (LDH). Todavia, devido a inexistência no músculo da enzima *glicose 6-fosfatase*, responsável pela reconversão da reação glicose – lactato; o ácido láctico presente no músculo é transportado pela corrente sanguínea para o fígado, onde ocorre ressíntese da glicose. Posteriormente, a glicose sintetizada é carregada para o músculo, onde ocorre a formação de moléculas de glicogênio (ciclo de Cori), (KANEKO et al. 2008). De acordo com Kingston (2008), as medidas dos batimentos cardíacos e a concentração de lactato sanguíneo são as bases para teste do exercício em equinos atletas. A taxa dos batimentos cardíacos é expressa em uma velocidade constante submáxima, como V_{200} (velocidade na qual os batimentos cardíacos atingem 200 por minuto). Em alguns estudos, igualmente válidos, a taxa utilizada tem sido de V_{140} e V_{170} .

2.6.5 Colesterol

Segundo González; Silva (2006), o colesterol nas espécies animais pode ser tanto de origem exógena proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado a partir da Acetil CoA, principalmente no fígado. A biossíntese de colesterol é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol é precursor dos ácidos biliares, que fazem parte da bile, e dos hormônios esteroidais. Os níveis sanguíneos de colesterol podem estar aumentados no hipotireoidismo, em obstruções biliares, na diabetes mellitus ou em dietas ricas em carboidratos ou gorduras. Os níveis estão baixos quando há deficiência de alimentos energéticos, em uma lesão hepato-celular, no hipertireoidismo ou em uma alimentação deficiente em energia.

2.7 Avaliação Hematológica dos Equinos

A hematologia é o estudo dos elementos celulares do sangue, os quais podem ser divididos em três categorias: (1) eritrócitos, hemácias ou células vermelhas; (2) plaquetas ou trombócitos e (3) leucócitos ou células brancas. O órgão central da formação das células do sangue é a medula óssea (KERR, 2002).

2.7.1 Eritrócitos

Eritrócitos, hemácias ou glóbulos vermelhos são as células do sangue responsáveis pelo transporte de hemoglobina no organismo. São constituídos de 60 a 70% de água, 28 a 35% de hemoglobina e até 5% de substâncias orgânicas e inorgânicas. Nos animais jovens e adultos o eritrócito origina-se na medula óssea, sua produção e destruição ocorrem de forma balanceada, sendo que o total de eritrócitos se mantém constante. A função primordial das hemácias consiste em conduzir a hemoglobina (KERR, 2002). O hematócrito ou volume globular (VG) é o volume ocupado pelas hemácias numa amostra de 100 mL de sangue total. Consiste na separação do sangue por centrifugação em três partes: volume das hemácias (volume globular), volume de leucócitos e plaquetas e o plasma. Segundo Matos; De Matos, (1988), o volume globular está intimamente relacionado com o tamanho e o número dos glóbulos vermelhos. É expresso em percentagem ou como uma fração decimal (35% = 0,35). Os valores normais variam com as espécies, sendo da ordem de $0,30 \pm 0,40$, em animais de grande porte.

2.7.2 Hemoglobina (Hb)

É uma metaloproteína cuja função é transportar oxigênio pelo sangue. É produzida no fígado e sua degradação leva a formação de bilirrubina. O nível de Hb é um indicador da quantidade de proteína na dieta. Está aumentada com a idade e na desidratação. A redução do nível de hemoglobina e do hematócrito indicam anemia, a qual pode ser causada por vários fatores, tais como: deficiência de proteínas ou minerais, principalmente ferro, cobre e cobalto; hemólise por intoxicações, defeitos congênitos e infecções virais específicas. A anemia fica configurada quando a concentração de Hb é menor que 8 g/dl ou o hematócrito é menor que 25%. De acordo com Carvalho ; Silva, (1988), os índices hematimétricos calculados a partir do resultado da contagem de hemáceas, concentração de hemoglobina e valor do hematócrito são utilizados para a classificação das anemias. O Volume Corpuscular Médio (VCM) e a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) fornecem informações sobre a morfologia das células vermelhas. O VCM expressa o volume individual médio do eritrócito, que no equino é de aproximadamente 45 femtolitro (fl) (KERR, 2002). A CHCM expressa em percentagem a concentração da hemoglobina nas hemácias. A relação entre o VCM e CHCM permite um aprofundamento sobre a classificação dos diversos tipos de anemia. (MATOS; DE MATOS, 1988; LORENZI, 2003).

2.7.3 Leucócitos

O termo leucócitos inclui todos os glóbulos brancos do sangue e seus precursores. A contagem total de glóbulos brancos permite uma avaliação da situação imunológica do animal. No entanto, é necessário realizar a contagem diferencial dos glóbulos brancos, através da análise de um número definido de células brancas, identificando-os como granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e agranulócitos (linfócitos e monócitos) (MATOS; DE MATOS, 1988; KERR, 2002; LORENZI, 2003). De acordo com Kerr, (2002), enquanto os granulócitos e monócitos são formados exclusivamente na medula óssea, os linfócitos são formados, principalmente nos linfonodos e baço. Desta forma, uma aplasia de medula óssea, atinge menos estas células.

2.8. Perfil Bioquímico Sanguíneo dos Equinos em Exercício

No exercício, o organismo sofre uma série de respostas metabólicas, tais como (a) aumento da capacidade de oxigenação do sangue mediante aumento da frequência respiratória e da contração esplênica que aumenta o número de eritrócitos no sangue, com consequente aumento do volume globular (VG) e da hemoglobina; aumento da produção de ácido láctico quando o metabolismo passa de aeróbico a anaeróbico; o ácido láctico, por sua vez, pode afetar a permeabilidade das membranas celulares, especialmente das células musculares e aumentar a atividade de algumas enzimas no sangue, especialmente a Creatina quinase (CK); desidratação, devido a perda de água no suor e na respiração; mudanças no equilíbrio ácido-básico, devido a hiperventilação que causa uma queda na concentração de CO₂, com tendência a alcalose e aumento do ácido láctico com tendência a acidose. As mudanças no equilíbrio vão depender da duração e intensidade do exercício e da adaptação do animal. Um animal melhor treinado tem menor aumento de ácido láctico e maior capacidade de oxigenação (KINGSTON, 2008).

De acordo com González e Silva (2006), o uso do perfil metabólico para avaliar a adaptação ao exercício deve incluir a standarização dos valores referenciais para a raça, o sexo e a idade dos animais. Os melhores indicadores de adaptação ao exercício são a concentração de lactato e atividade sérica das enzimas creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH). Em geral, animais adaptados têm menores aumentos de ácido láctico e de enzimas e retorno mais rápido aos valores basais após corrida ou exercícios fortes. Segundo Agüera et al. (1975) a frequência cardíaca, velocidade e a concentração de lactato sanguíneo estão intimamente relacionadas. Velocidades alcançadas com concentração de lactato de 2 e 4 mmol/l são denominadas de VL2 e VL4 e são utilizadas para avaliar o grau de treinamento do cavalo. Nesse sentido, L150 e L200 representam a concentração de lactato quando a frequência Cardíaca atinge 150 e 200 batimentos por minuto, sendo um indicativo da capacidade física do exercício. De acordo com Lindner (2010) a frequência cardíaca, a velocidade, a concentração de lactato sanguíneo, podem ser usadas para comparações entre animais, mas principalmente para avaliar o progresso individual em programas de treinamento.

2.8.1 Aspartato aminotransferase (AST)

Conhecida também pelo nome de transaminase oxaloacética (TGO), a AST é encontrada principalmente no fígado, nos eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco, sendo utilizada para avaliar lesão muscular. Nos grandes animais é também utilizada para investigar doenças hepáticas (KERR, 2002). Valores altos de AST e baixos de colesterol e de albuminas revelam transtornos da função hepática. A AST por ser uma enzima mitocondrial e citossólica, necessita de lesões significativas para ser liberada na corrente sanguínea

(KANEKO et al. 2008). Por outro lado, a CK e a LDH por serem citossólicas e de tamanho pequeno, conseguem ultrapassar a membrana celular mesmo que não exista um dano tecidual muito grande, apresentando atividade sanguínea mais precocemente que a AST.

2.8.2 Creatina quinase (CK)

A CK está envolvida no metabolismo energético. Possui quatro isoenzimas, todas no tecido muscular (esquelético e cardíaco), cuja função é fosforilar de forma reversível a creatina, como forma adicional de conservação de energia em ligações fosfatadas. Seu nível está aumentado em danos musculares devido a traumas, excesso de exercício e miopatias nutricionais que envolvem deficiência de selênio e vitamina E. A CK é a enzima mais sensível para indicar lesão muscular. Sua meia-vida é curta e, após um intenso aumento inicial, retorna aos valores normais em 24-48 horas (KERR, 2002; GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

2.8.3 Lactato desidrogenase (LDH)

A LDH catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato com o cofator NAD^+ . É uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo esquelético, músculo cardíaco, fígado e eritrócitos, mas também nos rins, ossos e pulmões. Isoladamente a enzima não é específica para nenhum órgão. A concentração de LDH nos eritrócitos é 150 vezes maior do que no plasma, sendo um indicador de processo hemolítico. Qualquer intensidade de hemólise é prejudicial, pois o extravasamento de enzimas eritrocitárias incrementa a atividade total da LDH no plasma. Lesões musculares de diferentes etiologias podem estar relacionadas ao aumento da LDH. Devido ao tamanho e a longa meia-vida, permanecendo elevada, mesmo algum tempo após a lesão, a LDH pode ser útil no diagnóstico de lesão muscular (GONZALEZ; SILVA, 2006). Balogh (2001) demonstrou que, em cavalos de salto, a LDH aumentou imediatamente após o exercício e se manteve elevada após 24 horas, diferente da CK que teve um pico após o exercício, mas voltou aos valores basais após um dia. Thomassian et al. (2007) em estudo objetivando determinar a atividade sérica das enzimas AST, CK e LDH em cavalos da raça árabe, submetidos ao Teste Padrão do Exercício Progressivo em esteira, verificaram que a atividade sérica das enzimas AST, CK e LDH elevam-se imediatamente e retornam a valores semelhantes ao repouso, 30 minutos após o término do exercício. A atividade enzimática da AST eleva-se de 12 a 24 horas, da CK de 3 a 6 horas e da LDH, 24 horas após o teste padrão do exercício.

2.8.4 Gama glutamil transferase (GGT)

A GGT apresenta grande atividade nos rins e no fígado, mas somente a GGT de origem hepática é normalmente encontrada no plasma, pois a de origem renal é excretada na urina. O aumento da atividade da enzima é indicativo de danos hepáticos, colestase e proliferação dos dutos biliares em todas as espécies animais (KERR, 2002; KINGSTON, 2008). A meia vida da GGT em cavalos é de aproximadamente 3 dias. Balarin et al. (2005) observaram aumento significativo da GGT em animais submetidos ao condicionamento físico por período de 12 meses, todavia, não se verificou aumento da atividade enzimática, quando esses mesmos animais foram submetidos a exercícios de diferentes intensidades.

Oliveira et al. (2014) em estudo para investigar a resposta ao exercício de cavalos de esporte alimentados com diferentes níveis de proteínas e teste de velocidade em esteira variando de 6,0 até 10 m/s, verificaram que a concentração plasmática de ureia foi afetada pela dieta. Embora não tenham sido afetados pela dieta, as variáveis creatinina, volume globular, glicose e lactato foram influenciados pelo exercício, da mesma forma que a atividade sérica das enzimas AST, CK e LDH.

2.8.5 Fosfatase alcalina (FAL)

A fosfatase alcalina é uma enzima largamente distribuída no organismo, estando presente no intestino, fígado, rins, leucócitos e nos ossos (osteoblastos). Possui várias isoformas, sendo que a isoforma hepática é a que predomina no soro; assim, danos hepáticos resultam em aumento da concentração de FAL em equinos (HANK et al. 1993; KERR, 2002). Segundo Kingston (2008), um simples exercício tem um mínimo efeito sobre as enzimas hepáticas. No entanto, aumento na atividade da FAL no soro tem sido reportado em equinos com exercício prolongado, como o enduro ou em três dias ou mais de competição. Não está claro se esse aumento é de origem esquelética ou hepática. As taxas de FAL variam largamente entre as espécies, sendo que no equino, é da ordem de 0 a 599 UI/L (TRUEMAN et al. 1983).

2.9 Digestibilidade dos Nutrientes

De acordo com Meyer (1995), digestível corresponde a porção do alimento que não é eliminada nas fezes, sendo absorvido através da parede do intestino. Nesse aspecto, os equinos apresentam dois processos característicos de aproveitamento dos alimentos: a digestão pré-cecal ou enzimática que corresponde a porção do intestino onde os alimentos são submetidos a ação de enzimas do organismo; e a pós-ileal, que ocorre no intestino grosso, onde os alimentos não absorvidos na porção anterior são submetidos a ação bacteriana (Meyer, 1995; Lewis, 2000). Hintz (1979), relata que vários fatores podem afetar a digestão dos equinos tais como a individualidade, a composição química dos alimentos, quantidade consumida, tipo de exercício, processamento da matéria prima, tempo de transito e quantidade de fibra na dieta e processos analíticos utilizados.

Bryden (2012), salientou que as micotoxinas podem reduzir a eficiência da conversão alimentar e prejudicar na utilização dos nutrientes. O autor ressalta que contaminações com níveis de DON de 0,7 a 7,6 mg/kg e zearalenona acima de 0,45 mg/kg aumentam a proteína bruta e a energia metabolizável verdadeira e a disponibilidade dos aminoácidos da aveia. Milho contaminado com essas micotoxinas apresentaram o mesmo resultado. Fumonisin em níveis abaixo de 14,4 mg/kg não provocam efeitos adversos na proteína bruta, extrato etéreo ou energia metabolizável. Todavia, determinadas variedades de aveia mostraram significativas mudanças na composição de aminoácidos quando contaminadas com variedades toxigênicas de *Aspergillus flavus*.

Broom (2015) relatou que as micotoxinas causam efeitos no intestino ou na flora intestinal. Esses efeitos podem ser aditivos ou sinérgicos quando múltiplas micotoxinas estão presentes. A maioria desses efeitos são negativos para a saúde intestinal e incluem diminuição da viabilidade das células, redução na concentração de ácidos graxos de cadeia curta, eliminação das bactérias benéficas e aumento na expressão de genes envolvidos na inflamação. Dessa forma, as micotoxinas podem influenciar na composição e/ou na fermentação dos produtos da microbiota intestinal e assim, afetar a saúde e performance dos animais. Hauschild et al. (2007) observaram que concentrações de 2 ppm de ZEA não interferiu na digestibilidade das dietas e no metabolismo de suínos. Jo et al. (2016) em estudo sobre os efeitos de dietas contendo DON e ZEA, nas concentrações de 10 mg/kg, na digestibilidade aparente ileal de suínos, observaram redução na digestibilidade de alguns aminoácidos essenciais, em especial do triptofano, provavelmente ocasionado por lesões no epitélio intestinal ocasionado pela ação da micotoxina DON. Sun et al. (2016) em estudo sobre o impacto de baixas concentrações de AF na alimentação de suínos, verificaram que concentrações de 20 µg/kg não foram suficientes para afetarem as variáveis sorológicas e hematológicas e o crescimento dos animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Escola de Sargentos das Armas (ESA), latitude 21° 42'15.6'' sul e longitude 45° 15'18.9'' oeste, Exército Brasileiro, em Três Corações, Minas Gerais. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA / UFRRJ), Protocolo nº 1212031017.

Foram utilizados 12 equinos adultos, sendo 9 fêmeas e 3 machos das raças Brasileiro de Hipismo e mestiços, com idade entre 5 e 8 anos e peso corporal médio de 458,02 ±22,09 kg. O período experimental total foi de 40 (quarenta) dias, dividido em duas fases, uma pré-experimental de 12 (doze) dias e a fase experimental de 28 (vinte e oito) dias. Na fase pré-experimental, procedeu-se a verificação dos dentes, pesagem e vermifugação. Os animais foram alojados em paddocks e condicionados a dieta composta por feno de tifton (*Cynodon spp*) e alfafa (*Medicago sativa*), ração comercial, sal mineral e água à vontade, elaborada segundo o NRC (2007) para equinos adultos em manutenção (Tabela 4).

Tabela 4 – Composição química dos alimentos utilizados no ensaio (base MS)¹

Item	Concentrado comercial	Feno de Alfafa	Feno de Tifton
Matéria Seca (MS) (%)	87,2	90,3	89,2
Proteína Bruta (PB) (%)	9,8	17,3	10,3
Extrato Etéreo (EE) (%)	3,1	3,0	2,0
Fibra em Detergente Neutro (FDN) (%)	-	52,3	74,3
Fibra em Detergente Acido (FDA) (%)	3,4	34,1	40,2
DIVMS (%) ²	94,6	59,2	64,2
Micotoxinas ³ (ppb)	ZEA	446,5	261,5
	DON	2.380	2.480
	FB	560	-

(1) Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da UFMG;

(2) Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca (DIVMS);

(3) Análises realizadas no Laboratório de Micologia (LAMICO) da UFMG

3.1. Produção e Estimativa de Micotoxinas

A Aflatoxina B₁ utilizada foi produzida a partir da fermentação de arroz por uma suspensão de esporos de *Aspergillus parasiticus* (NRRL 2999), conforme método descrito por Shotwell et al. (1966), no Laboratório de Micologia da UFRRJ. O conteúdo de AFB₁ contida no arroz fermentado e moído (núcleo) foi extraída e purificada através de uma coluna de Aflazon Mycosep®, conforme instruções de fabricação e quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), obtendo-se a concentração de 4,25 ppm.

3.2. Fase Experimental

Os animais foram distribuídos, de forma homogênea, em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcela sub-dividida, com três tratamentos com quatro animais cada, sendo o animal a unidade experimental. O número de animais foi definido tendo em vista a disponibilidade de insumos, particularmente do núcleo contendo aflatoxinas.

A fase experimental teve a duração de 28 dias. Os equinos permaneceram soltos em paddocks durante o dia e foram alojados em baias individuais durante a noite. Os animais

foram arraçoados conforme o regime alimentar da Unidade Militar, sendo 2 kg de ração às 05 h e 2 kg às 17 h; feno de alfafa às 10 h e de tifton às 13h e 20 horas. Durante o período experimental, a temperatura média foi de 21° C e a URAR média foi de 62,4 %.

Diariamente, parte do núcleo foi diluído na ração de forma a obter-se as concentrações desejadas de 50 e 100 ppb, utilizando a equação: $C_i \times V_i = C_f \times V_f$, onde, C_i e C_f é a concentração inicial e final e V_i e V_f , o volume inicial e final. No arraçoamento das 17 h, foi fornecido um quilograma de ração concentrada preparada, com 0, 50 ppb ou 100 ppb de AFB₁, conforme o tratamento preconizado, sendo essa a quantidade máxima de AFB₁ consumida por animal, independentemente do peso. Essa quantidade, diferenciou os tratamentos em TI (0 ppb AFB₁), TII (50 ppb AFB₁) e TIII (100 ppb AFB₁) (Tabela 5)

Tabela 5 - Quantidade média das dietas experimentais, g/kg na matéria seca, contendo diferentes concentrações de AFB₁ e micotoxinas.

Alimentos	Tratamentos		
	T I (Controle)	T II (50 ppb AFB ₁)	T III (100 ppb AFB ₁)
Feno (Tifton/alfafa) (g)	7.400	6.900	6.600
Concentrado Comercial (g)	4.000	4.000	4.000
Concentração de micotoxinas (µg)			
AFB ₁	0	50	100
ZEA	2.758,1	2.687,5	2.655,2
DON	21.564,7	20.689,9	20.289
FB	2.240	2.240	2.240
Total (g)	11.400	10.900	10.600

Durante as 4 semanas de duração do experimento, uma vez por semana no período da manhã, as 08 (oito) horas, foram coletadas amostras de sangue, iniciando-se no dia 20 de junho, ou seja, no 1° dia do experimento, sendo essa a coleta controle ou pré-experimento. As demais coletas se seguiram a 7 (sete), 14 (catorze), 21(vinte e um) e 28 (vinte e oito) dias de alimentação, tendo como objetivo a verificação da sanidade animal por meio do monitoramento da função hematológica, renal e hepática. Para avaliação hematológica, as amostras de sangue foram coletadas em tubo a vácuo com EDTA (Vacutainer BD®) e imediatamente após a coleta, encaminhadas para análise no Laboratório Bioquímico da ESA.

Foram realizadas as análises do volume globular (VG), pelo método de microhematócrito e a determinação do hemograma com o auxílio de um contador automático (Horiba ABX Micros 60®), sendo realizadas as seguintes análises: contagem global de leucócitos; contagem de hemácias, determinação dos teores de hemoglobina; cálculo do volume corpuscular médio (VCM); cálculo da hemoglobina corpuscular média (HCM), cálculo da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), cálculo da concentração de linfócitos, monócitos e segmentados.

O monitoramento da função renal, hepática e do metabolismo foi realizado pela avaliação dos parâmetros da bioquímica sanguínea. Amostras de sangue foram coletadas em tubos a vácuo contendo fluoreto de sódio (vacutainer BD®) para determinação de glicose e em tubos a vácuo sem anticoagulante (vacutainer BD®) para determinação do colesterol, ureia, creatinina, γ -glutamil transferase (GGT), creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e fosfatase alcalina (FAL). Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 7.000 rpm, por 10 minutos, para separação do plasma e soro. Alíquotas de 1 (um) mL foram retiradas com pipeta automática e armazenadas

a -20°C, em tubos de polipropileno de 1,5mL, até o momento da análise. Posteriormente, as análises foram realizadas pelo método enzimático/colorimétrico em aparelho espectrofotômetro marca SB 190 – CELM® (Cia Equiparadora de Laboratórios Modernos – CELM.Brasil), sendo que as análises de colesterol, proteína total e albumina forma realizadas em aparelho Labmax progress® (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil). Para todas as análises foram utilizados kits Labtest®.

3.2.1 Avaliação do desempenho

O desempenho foi avaliado pelo exercício físico intervalado realizado no dia 11 de julho, aos 21 dias da fase experimental. No dia, a temperatura média foi de 21,5° C, sendo a mínima de 12,2° C e máxima de 28,1° C e a URAr média foi de 62,4%. Para a realização do exercício teste, os animais foram previamente submetidos a treinamento físico padronizado, por 50 (cinquenta) minutos, durante 5 (dias) dias por semana, nas três primeiras semanas da fase experimental. O programa de treinamento constou de exercício de treinamento em flexionamento, intercalando o passo e o trote, de forma que para a realização do exercício teste, todos tivessem o mesmo condicionamento físico. Para a realização do exercício teste, os animais foram aleatoriamente divididos em 3 (três) grupos com 4 (quatro) animais. O exercício teve início às 9:00 horas, finalizando às 12:06 h do mesmo dia, sendo realizado de forma sequencial para cada grupo. O exercício constou de um aquecimento prévio de 17 (dezesete) min ao trote e ao passo seguido de três galopes de 450 m/min, com monitoramento da frequência cardíaca (FC) entre os galopes, de forma que os animais pudessem passar ao galope seguinte quando a FC estivesse em até 60-70 bpm. Para a avaliação do desempenho, previamente ao exercício e imediatamente após o 3° galope, foram monitoradas a FR e a FC e realizadas coletas sanguíneas, para análise do volume globular, glicose, lactato e da bioquímica sanguínea, que se prosseguiu nos tempos de coleta após o exercício (Tabela 6).

Tabela 6 – Equivalência entre os momentos de coletas e o tempo, em minutos/horas.

Momentos de avaliação dos equinos durante o teste intervalado									
M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Pré-exercício	Imediatamente Pós exercício	10 min	20 min	60 min	3 horas	6 horas	12 horas	24 horas	48 horas

A FC e a FR foram monitoradas com estetoscópio veterinário, Mod Littmann^{MR}. As amostras sanguíneas foram coletadas utilizando-se agulha para coleta a vácuo (BD[®]) e tubos a vácuo com EDTA (vacuteiner BD[®]) para a avaliação do hemograma. Utilizou-se tubos a vácuo com fluoreto de sódio (vacuteiner BD[®]) para as determinações de glicose e lactato, e em tubos a vácuo sem anticoagulante (vacuteiner BD[®]) para a obtenção do soro sanguíneo. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 7.000 rpm, por 10 minutos, para separação do plasma e soro. Alíquotas de 1 (um) mL foram retiradas com pipeta automática e armazenadas a -20°C, em tubos de polipropileno de 1,5mL, até o momento da análise. Posteriormente, as análises foram realizadas pelo método enzimático/colorimétrico em aparelho espectrofotômetro marca SB 190 – CELM® (Cia Equiparadora de Laboratórios Modernos – CELM.Brasil), sendo que as análises de colesterol, proteína total e albumina foram realizadas em aparelho Labmax progress®. Para todas as análises utilizou-se kits Labtest®.

3.2.2 Ensaio de digestibilidade

Ao final da fase experimental, os animais foram submetidos ao ensaio de digestão, pelo método de coleta parcial de fezes, utilizando-se o LIPE[®] como indicador, segundo metodologia descrita por Saliba et al. (2003) e Saliba et al. (2013). Durante 6 (seis) dias, do 21° ao 26° dia da fase experimental, foi administrada uma capsula de 500 mg de LIPE[®], no arraçãoamento das 18 (dezoito) horas. Após 48 (quarenta e oito) horas, iniciou-se a coleta de fezes, no mesmo horário, diretamente na ampola retal, durante 5 (cinco) dias. As amostras diárias, por animal, formaram ao final do período de coleta uma amostra composta, que foi congelada a -18° C para posterior análise.

O LIPE é um marcador externo obtido da lignina isolada de *Eucalyptus grandis* e enriquecido com grupos fenólicos, produzindo o hidroxifenil propano, que são usados para estimar a ingestão da Matéria Seca e a digestibilidade (SALIBA et al. 2003; SALIBA et al. 2013). A concentração de LIPE nas fezes foi determinada utilizando Espectroscopia de infravermelho e a estimativa de produção fecal obtida pela equação:

$$\text{Produção Fecal (PF, } \frac{\text{g}}{\text{dia}}) = \frac{(\text{Quantidade de marcador ingerida pelo animal, g})}{(\text{Concentração de LIPE nas fezes, g/\%MS})}$$

As amostras de fezes e dos alimentos utilizados foram analisadas quanto aos teores de matéria seca, nitrogênio e extrato etéreo, segundo metodologia descrita Silva (2002). As análises de fibra em detergente ácido foram realizadas segundo a metodologia descrita por Van Soest (1967) e Van Soest et al. (1991). A digestibilidade dos nutrientes foi obtida com a seguinte fórmula:

$$\text{Digestibilidade Aparente (\%)} = \frac{(\text{Nutriente ingerido} - \text{Nutriente excretado nas fezes})}{(\text{Nutriente ingerido})} \times 100$$

A digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca (DIVMS), foi calculada segundo metodologia proposta por Tilley & Terry (1963) com adaptações nos métodos preconizados por Detmann et al. (2012), de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{DIVMS (\%)} = \frac{(\text{MS do alimento incubado} - \text{MS do resíduo})}{(\text{MS do alimento incubado})} \times 100$$

3.3. Análises Estatísticas

Os resultados dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e fisiológicos e da digestibilidade das dietas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em esquema de parcela sub-dividida e as médias dos coeficientes de digestibilidade, das variáveis associadas ao desempenho, parâmetros bioquímicos e nutricionais foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (SAEG, 2007).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ocorrência e Consumo de Micotoxinas

Os resultados das concentrações de micotoxinas nos alimentos da dieta foram de 5.620 ppb de DON, observados nos fenos de tifton e alfafa e no concentrado comercial, de 708 ppb de ZEA, observados no feno de alfafa e no concentrado comercial e, de 560 ppb de FB₁, observado no concentrado comercial. As quantidades de micotoxinas consumidas pelos animais de acordo com o tratamento são expressos na Tabela 7.

Tabela 7 – Consumo médio de micotoxinas ($\mu\text{g}/\text{Kg MS}$) ($\mu\text{g}/\text{Kg PV}$), de acordo com o tratamento experimental.

Variáveis		T I		T II		T III	
		(Controle)		(50 ppb AFB ₁)		(100 ppb AFB ₁)	
		KgMS	KgPV	KgMS	KgPV	KgMS	KgPV
Consumo de micotoxinas (μg)	AFB ₁ ⁽¹⁾	0	0	4,6	0,1	9,4	0,2
	ZEA	241,1	6,1	246,7	5,7	249,3	5,9
	DON	1.885,1	47,6	1.899,1	43,9	1.904,7	45,3
	FB	195,8	4,9	205,6	4,8	210,3	5,0

(1) Quantidade máxima consumida por animal; PV: peso vivo

Estas quantidades revelam que a presença de micotoxinas nos alimentos para os equinos constitui um sério problema de escala mundial e no Brasil, deve-se as condições climáticas favoráveis a multiplicação dos fungos produtores (CALONI; CORTINOVIS, 2010; SCHULZ, 2015). A presença simultânea de DON, ZEA e FB₁ no concentrado equino, deve-se, possivelmente, a presença do milho na constituição da mesma, na proporção de 25 a 30%. Estes resultados estão em concordância com os observados por Liesener et al. (2010) que ao analisarem os alimentos individualmente, observaram que as micotoxinas apresentam um perfil de distribuição específico e que o milho, dentre os cereais avaliados, foi o que apresentou maior susceptibilidade a contaminações com DON, ZEA e FB₁.

Caloni; Cortinovis (2010) destacam que a ocorrência simultânea de micotoxinas produzidas por *Fusarium spp*, como o DON e ZEA é uma questão importante a ser observada, devido a suas implicações sobre a saúde e o bem-estar animal. Além disso, conforme observado por Zachariasova et al. (2014) é frequente a ocorrência simultânea de micotoxinas, com por exemplo FB₁ e DON em derivados do milho e DON e ZEA em fenos, colocando os animais em situação de risco. Os resultados observados para DON, nesta pesquisa, foram da ordem de 5,6 mg/kg de MS, sendo as concentrações semelhantes no feno de alfafa e no concentrado. Estas quantidades são superiores aquelas encontradas por Cortinovis et al. (2012) quando analisaram 72 amostras de matérias-primas para alimentação de equinos em propriedades situadas no norte da Itália, quanto a presença de DON e da toxina T-2, utilizando o método ELISA. DON foi detectado em 38,9% das amostras testadas, a níveis entre 0,2 e 1,9 mg/kg de MS, sendo as maiores concentrações observadas no milho.

Todavia, Caloni; Cortinovis (2011) e Cortinovis et al. (2012) observaram que cavalos alimentados durante 40 dias, com cevada naturalmente contaminada com DON entre 36 e 44 mg/kg MS, não apresentaram efeitos, tais como recusa de alimento ou alteração da bioquímica e hematologia sanguínea, sugerindo que assim como os ruminantes, os equinos são relativamente resistentes aos efeitos adversos da DON. Da mesma forma, Schulz, (2015), em experimentação com equinos alimentados com fenos naturalmente contaminados com DON em concentração variando de 9,37 a 18,6 mg/kg MS, durante 21 dias, não observaram efeitos adversos a saúde dos animais.

As concentrações de ZEA detectadas nos alimentos ofertados aos grupos tratados, foram de 261,5 ppb e 446,5 ppb para a alfafa e o concentrado comercial, respectivamente. Gimeno e Quintanilla (1983) relataram surtos naturais em equinos consumindo alimentos contendo 2,7 ppm de ZEA por kg/MS. Os sinais clínicos observados nas éguas foram edema de vulva, prolapso vaginal, flacidez da genitália e recusa do alimento. Nesta pesquisa não foram observadas sintomatologia clínica nos equinos, sugerindo que a quantidade de ZEA presente nos alimentos da dieta não foram suficientes para provocar alterações clínicas nos equinos. Ressalta-se que a quantidade observada foi inferior a diretiva da União Europeia (2006), de 3 ppm para subprodutos do milho destinado à alimentação animal.

A quantidade de FB₁ presente no concentrado comercial que compunha a dieta base e ofertado aos grupos tratados foi de 560 ppb. Ross et al. (1991) analisaram amostras de alimentos associados a 45 casos confirmados de surtos de LEME, ocorridos em várias regiões dos Estados Unidos e verificaram contaminação com FB₁, com níveis variando entre 1 a 126 ppm, sendo que a maioria das amostras apresentaram níveis acima de 10 ppm. Nos equinos, os primeiros sinais clínicos podem ser observados a partir de concentrações de > 10mg/Kg MS de fumonisina no alimento (FINK-GREMMLES; SPRONK, 2013). Para Reed et al. (2004) alimentos contendo concentrações superiores a 10 mg/kg de MS de fumonisina são fatais para equinos. Santos et al. (2013) observou surtos em equinos consumindo concentrado comercial com níveis detectáveis de 6,6 mg/kg de FB₁. Nesta pesquisa, não se observou sinais clínicos compatíveis com LEME, possivelmente devido as baixas concentrações de FB₁ na dieta, contudo devem ser avaliadas as alterações hematológicas e enzimáticas que podem estar relacionadas com a presença simultânea de várias micotoxinas.

Não foram detectados níveis de AFB₁ nos alimentos que compunham a dieta base. A AFB₁ foi produzida em laboratório e adicionada ao concentrado comercial nas concentrações de 50 e 100 ppb, conforme o tratamento preconizado, sendo essa a quantidade máxima consumida pelo equino, independente do peso. Keller et al. (2007) encontraram concentrações que variaram entre 0,01 e 99,4 ppb de AFB₁ em alimentos para equinos, sendo o gênero *Aspergillus sp* mais frequentemente encontrado e o *Aspergillus flavus*, a espécie prevalente em 36% das amostras. Vesonder et al. (1991) relataram mortes de três equinos após a ingestão de milho contaminado com 114, 10 e 6 ppb de aflatoxina B₁, B₂ e M₁, respectivamente. Diaz et al. (2013) observaram, por um período de 9 anos, uma prevalência de 7% de AF acima de 10 ppb (média de 91 ppb) em 1.617 amostras de alimentos produzidas na Carolina do Norte, sendo que no milho grão a prevalência foi de 9% em 231 amostras, com concentração média de 170 ppb. Em revisão realizada por Caloni; Cortinovic (2011) relataram que de 26 amostras de alimentos para equinos, com predominância da aveia grão, análises detectaram a presença de 15 generos e 22 espécies fúngicas, com prevalência de *Alternaria alternata* e *A. flavus*. Todavia, não foi detectada a presença de AFB₁, sugerindo que o fungo precisa de condições inapropriadas de estocagem para produção da toxina. Os autores relataram que, embora inconclusivas, as aflatoxicoses podem ocorrer com concentrações entre 0,5 e 1,0 mg/kg na matéria natural da dieta total, as quais induzem mudanças clínicas e danos hepáticos, dependendo do tempo de exposição

4.2 Hematologia

Os resultados para hematologia obtidos por coletas semanais, durante 28 dias (Tabela 8) demonstraram que houve interação da aflatoxina para os níveis de segmentados (P<0,05) e da aflatoxina em função do tempo nos níveis de monócitos e de segmentados (P<0,05). Para as demais variáveis observou-se apenas o efeito simples do tempo (P<0,05). Buscou-se com essas análises observar a possível influência da AFB₁ nos processos hematológicos do equino.

Tabela 8 - Hematologia de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Variáveis	Média	CV %	Significância (P<0,05)			Valores de referência
			AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo	
Volume Globular (%)	33,8	5,8	0,3349	0,0011	NS	38-42 ¹
Eritrócitos (10 ⁶ µL ⁻¹)	7,5	5,9	NS	0,0016	NS	7-11 ¹
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	11,4	5,5	0,2533	0,0000	NS	11-17 ¹
VCM (fL)	45,4	0,9	NS	0,0032	NS	42-47 ¹
CHCM (%)	33,7	1,1	NS	0,0000	NS	31-38,6 ²
Leucócitos totais (10 ³ µL ⁻¹)	7,9	8,5	0,0783	0,0009	0,3252	6-11 ¹
Linfócitos (10 ³ µL ⁻¹)	3,5	16,2	NS	0,0027	0,1244	2-5,5 ¹
Monócitos (10 ³ µL ⁻¹)	1,4	17,6	NS	0,0280	0,0254	0,2-0,8 ¹
Segmentados (10 ³ µL ⁻¹)	3,0	12,3	0,0000	0,0010	0,0276	2,3-8,6 ³

¹ROSE; HODGSON (1994); ²CARLSON (1993); ³ROBINSON (1997)

VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CV: Coeficiente de Variação.

Verificou-se elevação nos valores do Volume Globular (VG), (Tabela 9), Eritrócitos (Tabela 10), da Hemoglobina (Tabela 11) e da Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), (Tabela 12), observados aos 28 dias. Não foi observado interação com o tempo nessas variáveis (P>0,05). Contudo, mesmo ocorrendo elevação em relação a análise anterior, dos 21 dias, os valores observados continuaram dentro dos limites clínicos normais para os equinos.

Tabela 9 - Volume globular (VG %) médio de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	VG %	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	32,6 ^B	0,3492	0,0011	NS
7	33,3 ^B			
14	32,9 ^B			
21	34,2 ^{AB}			
28	36,0 ^A			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);

Coeficiente de Variação (CV): 5,8%

Tabela 10 – Eritrócitos (10⁶ µL⁻¹) médio de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Eritrócitos (10 ⁶ µL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	7,1 ^B	NS	0,0016	NS
7	7,4 ^B			
14	7,3 ^B			
21	7,5 ^{AB}			
28	7,9 ^A			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);

Coeficiente de Variação (CV): 5,9%

Tabela 11 – Hemoglobina (g dL⁻¹) média de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Hemoglobina (g dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	10,9 ^B	0,2533	0,0000	NS
7	10,9 ^B			
14	10,7 ^B			
21	11,0 ^B			
28	13,5 ^A			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 5,5%

Tabela 12 – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM %) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	CHCM (%)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	33,5 ^B	NS	0,0000	NS
7	33,1 ^B			
14	32,5 ^C			
21	32,0 ^D			
28	37,5 ^A			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 1,2 %.

O condicionamento físico pode levar ao aumento do Volume Globular (VG) e das concentrações de hemoglobina e por sua vez refletir no aumento da CHCM. De acordo com Castejón et al. (2007) e Kingston (2008) o aumento do hematócrito e a elevação da hemoglobina após treinamento está relacionado ao aumento da eritropoese devido a maior produção de eritropoetina, como consequência da hipóxia tecidual ocorrida no tecido muscular durante o período de treinamento. Esse achado foi observado por Santiago et al. (2013) em equinos submetidos a esforço físico em esteira de alta velocidade, contudo os animais foram treinados por um período superior a 90 (noventa) dias.

Nesta pesquisa, os animais foram treinados até o período do exercício teste intervalado, ocorrido aos 21 dias da fase experimental. Comparativamente, o período utilizado pode ser curto para que os animais obtivessem uma resposta ao condicionamento físico. Contudo, salienta-se que o exercício teste ocorreu na semana anterior (aos 21 dias) e que esse resultado pode ser reflexo do exercício realizado. Todavia, também não se descarta que alterações na coleta, processamento e análises pode ter refletido nos resultados dos exames, uma vez que as coletas foram realizadas com os animais em repouso (O-OOSTERBAAN, 1998).

A CHCM (Tabela 12) expressa, em porcentagem, a concentração da hemoglobina nas hemácias. A relação entre o VCM e CHCM permite um aprofundamento sobre a classificação dos diversos tipos de anemia. (MATOS; DE MATOS, 1988; LORENZI, 2003). Acredita-se que a elevação da CHCM seja um reflexo do aumento da hemoglobina devido ao condicionamento físico (Kingston, 2008). Contudo, não se descarta possíveis alterações na coleta e processamento que possam ter influenciado nesse resultado (O-OOSTERBAAN, 1998).

O VCM (Tabela 13) expressa o volume individual médio do eritrócito (KERR, 2002). No decorrer deste experimento, observou uma redução no VCM, comparativamente a média

dos valores basais. Os valores encontrados, embora significativamente menores, encontram-se dentro dos limites fisiológicos para a espécie em estudo (ROSE; HODGSON, 1994).

Tabela 13 – Volume Corpuscular Médio (VCM fL) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	VCM (fL)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	45,8 ^A	NS	0,0032	NS
7	45,3 ^B			
14	45,2 ^B			
21	45,4 ^{AB}			
28	45,4 ^{AB}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05); Coeficiente de Variação (CV): 0,9%.

Os resultados para a série branca são mostrados na Tabela 14. Verificou-se efeito simples dos tempos de coleta nas concentrações de Leucócitos (P<0,05). Não sendo observado efeito do tratamento ou da aflatoxina no decorrer dos tempos de coleta (P>0,05).

Tabela 14 – Leucócitos Totais (10³ μL⁻¹) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Leucócitos Totais (10 ³ μL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	8,1 ^{ABC}	0,0783	0,0009	0,3252
7	8,5 ^A			
14	8,2 ^{AB}			
21	7,5 ^{BC}			
28	7,3 ^C			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05); Coeficiente de Variação (CV): 8,5%

Observou-se redução significativa (P< 0,05) na concentração de Leucócitos Totais por efeito simples do tempo, observadas aos 21 e 28 dias. Esses resultados contradizem Kowal et al. (2006) que ressaltam que o leucograma pode aumentar 10 a 30% de acordo com a duração e a intensidade do exercício. Ressalta-se, contudo, que nesta fase, os animais não estavam em exercício e as coletas foram realizadas com animal em repouso pela manhã. Todavia, os valores encontrados estavam dentro dos parâmetros fisiológicos para a espécie (ROSE; HODGSON, 1994).

A concentração média de linfócitos (Tabela 15) foi influenciada pelo efeito simples do tempo do experimento (P<0,05), não sendo observado interferência da aflatoxina (P>0,05).

Observou-se um comportamento errático dos linfócitos dentro das semanas, com elevação dos valores médios nas duas primeiras semanas e redução nas semanas seguintes. Contudo, os valores encontrados encontram-se dentro dos limites basais para a espécie (ROSE; HODGSON, 1994).

Tabela 15 – Linfócitos ($10^3 \mu\text{L}^{-1}$) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Linfócitos ($10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	3,6 ^{AB}	NS	0,0027	0,1244
7	4,0 ^A			
14	3,7 ^A			
21	3,0 ^B			
28	3,4 ^{AB}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 16,25%.

Para os monócitos (Tabela 16), observou-se um efeito simples do tempo (P<0,05) e interação da aflatoxina em relação ao tempo (P<0,05), embora a concentração de aflatoxina somente, não tenha sido significativo (P>0,05).

Tabela 16 – Monócitos ($10^3 \mu\text{L}^{-1}$) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	AFB ₁			Significância (P< 0,05)		
	Controle	50 ppb	100 ppb	AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	1,5 ^{Aab}	1,4 ^{Aa}	1,5 ^{Aab}	NS	0,0280	0,0254
7	1,1 ^{Ab}	1,5 ^{Aa}	1,4 ^{Aab}			
14	1,6 ^{Aa}	1,4 ^{Aa}	1,6 ^{Aa}			
21	1,1 ^{Aa}	1,3 ^{Aa}	1,4 ^{Aab}			
28	1,5 ^{Aab}	1,5 ^{Aa}	1,1 ^{Ab}			

Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na linha, diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P<0,05);

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05);

Coeficiente de Variação: 17,6 %

Observou-se variação na concentração de monócitos, de forma irregular, no grupo controle e no grupo com 100 ppb de AFB₁. A interação da aflatoxina no decorrer do tempo foi melhor observada no grupo com 100 ppb AFB₁, com uma redução da concentração de monócitos aos 28 dias. Dilkin et al. (2003) estudaram os efeitos da exposição crônica da AFB₁ e FB₁ em leitões desmamados durante 28 dias. As dietas continham variações de até 30 ppm de FB₁ e 50 ppb de AFB₁ na MS. Os autores não observaram diferenças significativas entre os vários regimes de intoxicação e o grupo controle, com zero de micotoxinas, nos resultados do leucograma, que incluía análises de Leucócitos totais, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos, CHCM, VCM e HCM.

Nesta pesquisa verificou-se interação da aflatoxina com o tempo na concentração de segmentados (P< 0,05), Tabela 17.

Tabela 17 – Segmentados ($10^3 \mu\text{L}^{-1}$) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Segmentados ($10^3 \mu\text{L}^{-1}$)			Significância (P< 0,05)		
	Controle	50 ppb	100 ppb	AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	2,3 ^{Bab}	3,3 ^{Aab}	3,6 ^{Aa}	0,0000	0,0010	0,0276
7	1,8 ^{Cab}	2,8 ^{Bb}	4,2 ^{Aa}			
14	2,7 ^{Ba}	2,8 ^{ABab}	3,7 ^{Aa}			
21	2,4 ^{Ba}	3,5 ^{Aa}	4,0 ^{Aa}			
28	1,6 ^{Cb}	2,5 ^{Bb}	3,7 ^{Aa}			

Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na linha, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na coluna, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

Coefficiente de Variação (CV):12,3%

O tratamento com 100 ppb de AFB₁ apresentou concentração média de segmentados superior. Houve variação da concentração no decorrer do tempo, embora não tenha apresentado um padrão uniforme. Procurava-se observar efeito imunogênico da aflatoxina nas células brancas, ou mesmo um efeito aditivo ou sinérgico entre as micotoxinas presentes na dieta (CAST, 2003). A maior concentração de segmentados nos tratamentos com 50 e 100 ppb de AFB₁ sugere maior resposta imunológica. Todavia, observando as médias durante as semanas, para o tratamento 100 ppb, verifica-se que não houve diferenças significativas quando da coleta do grupo no estado basal. Para os três tratamentos observou-se uma redução na concentração de granulócitos aos 28 dias, sendo significativo para o grupo controle e 50 ppb AFB₁. É importante observar que a presença de DON nos tratamentos poderia causar uma diminuição da resposta imune (PLACINTA et al. 1999; CAST, 2003;) e que esta resposta poderia ser maior no grupo com maior concentração de aflatoxina, devido a um possível efeito aditivo ou sinérgico. Contudo, o tratamento de 100 ppb de AFB₁ apresentou maior concentração de granulócitos, sugerindo que os equinos foram tolerantes aos efeitos adversos dessa micotoxina, nas concentrações utilizadas, durante o período observado. Nesse sentido, este estudo concorda com revisão realizada por Caloni; Cortinovic (2011) e Cortinovic et al. (2012) que verificaram que cavalos alimentados durante 40 dias, com cevada naturalmente contaminada com DON entre 36 e 44 ppm na MS, não apresentaram efeitos, tais como recusa de alimento ou alteração da bioquímica e hematologia sanguínea. Da mesma forma, Schulz, (2015), em experimentação com equinos alimentados durante 21 dias com feno naturalmente contaminados com DON em concentração variando de 9,37 a 18,6 ppm por kg/MS, não observaram efeitos adversos a saúde dos animais. Sun et al. (2016) verificaram que suínos alimentados durante 5 semanas, com dieta contendo concentrações de 20 ppb de AFB₁, não foram suficientes para afetar as variáveis sorológicas e hematológicas e o crescimento dos animais.

4.3 Bioquímica Sanguínea

Os resultados da bioquímica sérica dos equinos são apresentados na Tabela 18. Os resultados demonstram que houve efeito simples do tempo (P<0,05) para as variáveis e não houve efeito das aflatoxinas ou da interação do tempo com as aflatoxinas (P>0,05). Os valores médios para proteína total, albumina e globulinas em função do tempo são apresentados nas tabelas 19 a 21.

Tabela 18 – Valores médios da bioquímica sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Parâmetros	Média	CV (%)	Significância (P< 0,05)			Valores de referência
			AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo	
Proteínas totais (g dL ⁻¹)	5,3	22,4	0,0731	0,0002	0,1332	5.2-7.9 ³
Albuminas (g dL ⁻¹)	2,1	23,0	NS	0,0002	0,1437	2.6-3.7 ³
Globulinas (g dL ⁻¹)	3,2	22,4	0,0914	0,0004	0,1264	2.6-4.0 ³
Colesterol (mg dL ⁻¹)	86,2	20,2	0,2112	0,0002	0,0902	75-150 ²
Ureia (mg dL ⁻¹)	29,5	20,4	0,2436	0,0000	NS	24-48 ¹
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,9	14,6	0,2453	0,0000	NS	1,1-1,8 ¹
GGT, (U L ⁻¹)	7,7	21,8	0,2679	0,1816	0,3309	4,3-13 ⁵
AST, (U L ⁻¹)	288,7	24,0	0,0580	0,2085	NS	150-400 ¹
CK, (U L ⁻¹)	295,4	32,4	0,0229	0,0000	0,4400	100-300 ¹
LDH, (U L ⁻¹)	845,2	38,0	0,090	0,3195	NS	162-412 ³
FAL, (U L ⁻¹)	67,7	20,9	0,0119	0,0262	NS	100-500 ⁴

¹Rose; Hodgson (1994); ²Robinson (1997); ³González; Silva (2006); ⁴Kerr (2002); ⁵Thomassian (2005)

Tabela 19– Proteína Total (g/dL⁻¹) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Proteína Total (g/dL ⁻¹)	Significância (P<0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	6,1 ^{AB}	0,0731	0,0002	0,1332
7	6,4 ^A			
14	4,1 ^C			
21	4,9 ^{BC}			
28	5,1 ^{ABC}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);

Coefficiente de Variação (CV): 22,4%.

Tabela 20 – Albumina (g/dL⁻¹) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Albumina (g/dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	2,4 ^{AB}	NS	0,0002	0,1437
7	2,6 ^A			
14	1,6 ^C			
21	1,9 ^{BC}			
28	2,0 ^{BC}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);

Coefficiente de Variação (CV): 22,3%

Tabela 21 – Globulina (g/dL⁻¹) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Globulina (g/dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	3,7 ^A	0,0914	0,0004	0,1264
7	3,8 ^A			
14	2,5 ^B			
21	3,0 ^{AB}			
28	3,1 ^{AB}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05); Coeficiente de Variação:22,4%.

Os resultados para as proteínas sanguíneas e colesterol, oferecem informações sobre o metabolismo proteico e energético, como também indicam condições da funcionalidade hepática (GONZALEZ; SILVA, 2006). Esperava-se que os tratamentos com 50 e/ou 100 ppb de AFB₁ pudessem apresentar efeito na funcionalidade hepática, com reflexos na produção das proteínas sanguíneas (REED et al. 2004). Todavia, observou-se variação média das proteínas no decorrer do tempo, possivelmente decorrente das dietas. Rosa et al. (2001) observaram que a redução da proteína total, albuminas e globulinas foram indicativos de aflatoxicoses em frangos, sendo a relação Albumina/Globulina, um importante parâmetro a ser analisado.

Caloni; Cortinovis (2011), em revisão sobre intoxicações experimentais por AFB₁ em equinos relataram que, embora inconclusivas, as aflatoxicoses podem ocorrer com concentrações entre 0,5 e 1,0 mg/kg de MS na dieta total, as quais induzem mudanças clínicas e danos hepáticos, dependendo do tempo de exposição. Embora as quantidades de AFB₁ presentes nesta pesquisa sejam inferiores as relatadas, possíveis danos hepáticos poderiam influenciar no metabolismo proteico e na atividade enzimática. Todavia, os valores observados para as proteínas totais, albuminas e globulinas permaneceram dentro dos valores de referência para espécie (GONZALEZ; SILVA, 2006), sugerindo que as concentrações utilizadas não provocaram efeitos ou alterações na bioquímica sanguínea relacionada a proteína total, albumina e globulina.

Os resultados do colesterol em função do tempo (Tabela 22) não mostram efeito das aflatoxinas ou da interação do tempo com as aflatoxinas (P>0,05).

Tabela 22 – Colesterol (mg/dL⁻¹) sérico de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	Colesterol (mg/dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	96,6 ^{AB}	0,2112	0,0002	0,0902
7	102,7 ^A			
14	69,1 ^C			
21	81,4 ^{BC}			
28	81,0 ^{BC}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05); Coeficiente de Variação (CV): 20,25%.

Os níveis de colesterol são um importante indicador do metabolismo energético. Esperava-se que os tratamentos com maior concentração de aflatoxina, pudessem alterar a

concentração de colesterol plasmático e, portanto, influenciar no metabolismo energético. Todavia, não se observou interação da aflatoxina, mas um efeito simples dos tempos de coleta, sendo maior na segunda semana, revelando uma influência da dieta somente. Os resultados observados estão dentro dos parâmetros fisiológicos para a espécie (ROBINSON, 1997).

Os resultados das concentrações médias de Ureia e Creatinina em função do tempo são mostrados nas Tabelas 23 e 24, não sendo observado efeito das aflatoxinas ou da interação do tempo com as aflatoxinas ($P > 0,05$).

Tabela 23 – Uréia (mg/dL^{-1}) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta

Tempo (dias)	Uréia (mg/dL^{-1})	Significância ($P < 0,05$)		
		AFB_1	Tempo	$\text{AFB}_1 * \text{Tempo}$
Zero	28,5 ^{BC}	0,2436	0,0000	NS
7	25,3 ^{BC}			
14	24,4 ^C			
21	37,5 ^A			
28	31,6 ^{AB}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$);
Coeficiente de Variação (CV): 20,4%

Tabela 24 – Creatinina (mg/dL^{-1}) sérica de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB_1 na dieta

Tempo (dias)	Creatinina (mg/dL^{-1})	Significância ($P < 0,05$)		
		AFB_1	Tempo	$\text{AFB}_1 * \text{Tempo}$
Zero	0,97 ^B	0,2453	0,0000	NS
7	0,61 ^C			
14	1,05 ^B			
21	1,38 ^A			
28	0,72 ^C			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$);
Coeficiente de Variação (CV): 14,6%.

Voss et al. (1995) relataram o potencial nefrotóxico da FB_1 em ratos, ocasionado por alterações no metabolismo dos esfingolipídios. Os níveis de aflatoxina utilizados poderiam influenciar a função renal, por uma possível ação sinérgica com a FB. Todavia, isso não foi observado. Os valores para ureia e creatinina sofreram alterações no decorrer do tempo. Os maiores valores de ureia (Tabela 23) e creatinina (Tabela 24) ocorreram aos 21 dias de experimento. Embora significativamente maiores que das demais coletas, os valores encontram-se dentro dos parâmetros de referência para a espécie, segundo Rose; Hodgson (1994).

A atividade da Creatina Quinase (Tabela 25) foram influenciados pela concentração de aflatoxina, apresentado maior média no tratamento com 100 ppb AFB_1 , observando-se ainda efeito simples do tempo com valores maiores aos 28 dias de experimento.

Alterações na atividade da CK e da AST indicam lesão muscular ou exercício físico (Fazio et al. 2011). Não se esperava influência da AFB_1 sobre a atividade da CK. É importante frisar a ocorrência simultânea de micotoxinas na dieta, principalmente a FB_1 e uma possível interação entre elas. A FB_1 reconhecidamente age no metabolismo dos

esfingolipídios, podendo alterar a permeabilidade celular (RAMASANY et al. 1995), o que poderia contribuir para a elevação dos níveis de CK. Contudo, as alterações nas concentrações podem estar relacionadas a variações na coleta e processamento das amostras, resultando em maior valor para a coleta do 28º dia (O-OOSTERBAAN, 1998). Todavia, as médias dos tratamentos permaneceram dentro dos valores fisiológicos de referência para a espécie (ROSE; HODGSON, 1994).

Tabela 25 – Atividade da Creatina Quinase (CK, UI/L) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	CK (UI/L)				Significância (P< 0,05)		
	Controle	50 ppb	100 ppb	Média	AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Zero	176,5	291,5	223,5	230,5 ^{CD}	0,0229	0,0000	0,4400
7	215,5	296,0	357,0	289,5 ^{BC}			
14	136,5	164,2	258,5	186,4 ^D			
21	316,2	331,5	337,5	328,4 ^B			
28	349,7	498,7	478,2	442,2 ^A			
Média	238,9 ^B	316,4 ^{AB}	330,9 ^A	-			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 32,4%

Os valores médios da Fosfatase Alcalina (Tabela 26) foram influenciados pela aflatoxina, apresentando maior atividade para o tratamento de 100 ppb AFB₁ (P<0,05).

Tabela 26 –Atividade da Fosfatase Alcalina (FAL, UI/L) de equinos alimentados durante 28 dias com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo (dias)	FAL (UI/L)				Significância (P< 0,05)		
	Controle	50 ppb	100 ppb	Média	AF	Tempo	AF*Tempo
Zero	52,7	66,5	71,0	63,4 ^{AB}	0,0119	0,0262	NS
7	58,3	67,8	94,7	73,6 ^{AB}			
14	43,3	50,3	84,3	59,2 ^B			
21	65,2	76,0	91,3	77,5 ^A			
28	56,2	60,2	77,5	66,6 ^{AB}			
Média	55,1 ^B	64,1 ^{AB}	83,7 ^A	-			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV):20,9%

A FAL é uma enzima amplamente distribuída no organismo e o aumento da sua atividade pode estar relacionado a fatores de origem óssea, gastrointestinal ou hepatobiliar (TRUEMAN, 1983). Kerr et al. (2002) relatou que a isoforma hepática predomina no soro. Hank et al. (1993) observaram que em equinos adultos, somente 17,9% da FAL encontrada no soro é de origem óssea. Os maiores valores encontrados na atividade da FAL para o tratamento 100 ppb de AFB₁, podem estar relacionados a ação hepatotóxica da aflatoxina, além disso é possível a ocorrência de efeito sinérgico com a FB1, que em menor grau, também possui efeito hepatotóxico (VOSS et al. 2007; BRYDEN, 2012). A concentração média da FAL, nas coletas semanais não foram regulares. A maior média foi observada na 3ª semana, aos 21 dias da fase experimental, em coleta anterior ao exercício físico padronizado. Trueman (1983) relataram que aumentos na atividade da FAL são frequentemente inexplicados e que variações nos resultados podem sofrer influência da coleta e

processamento das amostras. Os resultados observados estão dentro dos valores de referência para a espécie relatados por Trueman (1983), com variação de 0 a 599 UI/L. No período em estudo, não foram observados sinais clínicos nos animais que indicassem qualquer alteração patológica no sistema ósseo ou gastrintestinal.

4.4 Desempenho

4.4.1 Parâmetros fisiológicos

Não houve efeito significativo da AFB₁ sobre a Frequência Respiratória e Cardíaca em resposta ao exercício, sendo observado apenas efeito simples do tempo (P<0,05), Tabela 27.

Tabela 27 – Frequência Respiratória (FR) e Cardíaca (FC) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta.

Variáveis	Média	CV (%)	Significância (P< 0,05)		
			AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
FR (resp/min)	13,25	21,45	NS	0,0000	NS
FC (bat/min)	66,95	16,03	NS	0,0000	NS

As frequências respiratória (FR) e cardíaca (FC) foram monitoradas no pré-exercício, imediatamente após o mesmo e nos tempos de 10 e 20 minutos (M3). Os resultados encontrados evidenciam uma resposta natural dos equinos ao exercício, havendo uma elevação tanto da FR, com da FC, imediatamente após o exercício, com tendência de retorno aos níveis basais, no tempo de 20 min. Os valores observados diferiram dos descritos por Paludo et al (2002), em animais da raça Brasileiro de Hipismo (BH), que apresentaram FC de 40,83±4,71 e FR de 16,67±3,05, no pré-exercício e de 53,67±8,24 e 37,33±11,5, para FC e FR, respectivamente no pós-exercício.

4.4.2 Parâmetros sanguíneos

A inclusão de aflatoxina na dieta não influenciou os parâmetros sanguíneos no exercício (P>0,05), (Tabela 28), com exceção da atividade da enzima FAL. Esperava-se que a inclusão de AFB₁ na dieta base, conjuntamente com outras micotoxinas, em especial a FB, pudessem evidenciar alterações no perfil hemático, durante o exercício.

Tabela 28 – Parâmetros sanguíneos de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Variáveis	Média	CV (%)	Significância (P< 0,05)		
			AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Volume Globular (%)	39,8	5,5	NS	0,0000	0,1709
Proteínas totais (gdL ⁻¹)	6,2	16,8	NS	0,0003	NS
Albuminas (g dL ⁻¹)	2,4	17,1	NS	0,0001	0,2319
Colesterol (mg dL ⁻¹)	97,3	16,1	NS	0,0014	0,4034
Ureia (mg dL ⁻¹)	33,4	10,4	NS	0,0000	0,4247
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,7	10,5	NS	0,0000	NS
GGT (U L ⁻¹)	7,8	38,5	NS	0,0000	0,1161
AST (U L ⁻¹)	271,3	16,3	0,0671	0,0000	0,1279
CK (U L ⁻¹)	323,7	27,8	0,3226	0,0000	NS

LDH (U L ⁻¹)	936,3	36,5	0,2882	0,000	NS
FAL (U L ⁻¹)	61,4	18,5	0,0227	0,3679	0,3625
Glicose (mg dL ⁻¹)	74,8	20,2	NS	0,0000	NS
Lactato (mmol L ⁻¹)	1,9	19,6	0,927	0,0000	NS

O consumo de baixas concentrações de micotoxinas, por longos períodos pode influenciar a saúde e a performance do equino por ação nos sistemas hepático e gastrointestinal (Raymond et al. 2005; Broom, 2015). Com isso, era de se esperar que micotoxinas hepatotóxicas pudessem prejudicar o metabolismo hepático, influenciando nos resultados da pesquisa. Contudo, as alterações observadas foram aquelas decorrentes do condicionamento físico do cavalo, efeito simples do tempo, não havendo interferência da aflatoxina.

O VG foi influenciado pelo exercício, sendo evidenciado nos tempos de coleta (Tabela 29), não sendo observado efeito das aflatoxinas ou da interação do tempo com as aflatoxinas ($P > 0,05$).

Tabela 29 – Volume Globular (VG %) de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	VG (%)	Significância ($P < 0,05$)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	34,2 ^D	NS	0,0000	NS
Imediatamente pós-exercício	47,7 ^A			
10 min pós-exercício	39,9 ^B			
20 min pós-exercício	37,4 ^C			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$); Coeficiente de Variação (CV): 5,5 %.

Como esperado, imediatamente após o exercício (M1), o VG apresentou valor mais elevado, cerca de 39% superior ao valor basal. A elevação do VG está relacionado a esplenocontração. De acordo com Kingston (2008) e McGowan (2008), o baço tem capacidade de armazenar cerca de 50% dos eritrócitos do organismo. A liberação desses eritrócitos no organismo ocorre em resposta ao estímulo simpático ou ao aumento da adrenalina circulante durante o exercício.

Os valores para Proteína Total e Albumina em resposta ao exercício (Tabelas 30 e 31) não foram influenciadas pela inclusão de aflatoxina na dieta não sendo observado efeito das aflatoxinas ou da interação do tempo com as aflatoxinas ($P > 0,05$).

Tabela 30 – Proteína Total (g dL⁻¹) sérica de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	Proteína Total (g dL ⁻¹)	Significância ($P < 0,05$)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	4,9 ^B	NS	0,0003	NS
Imediatamente pós-exercício	7,0 ^A			
10 min pós-exercício	6,6 ^A			
20 min pós-exercício	6,4 ^A			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$); Coeficiente de Variação (CV): 16,8 %.

Tabela 31 – Albumina (g dL⁻¹) sérica de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempo	Albumina (g dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	1,9 ^B	NS	0,0001	0,2319
Imediatamente pós-exercício	2,8 ^A			
10 min pós-exercício	2,5 ^A			
20 min pós-exercício	2,6 ^A			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 17,1 %.

A elevação na concentração das proteínas, observadas imediatamente após o exercício (M1) que se permaneceu até o tempo de 20 minutos (M3) podem ser explicadas pela hemoconcentração, com redistribuição de fluidos e eletrólitos do compartimento vascular para os espaços extracelulares, com aumento da viscosidade do plasma (KINGSTON, 2008). A perda de fluidos está relacionada a duração e intensidade do exercício e o retorno aos níveis basais ocorre em até 30 minutos pós exercício (KOWAL et al. 2006).

A concentração plasmática do colesterol (Tabela 32) não foi influenciada pela aflatoxina na dieta (P>0,05).

Tabela 32 – Colesterol (mg dL⁻¹) sérico de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	Colesterol (mg dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	81,4 ^B	NS	0,0014	0,4034
Imediatamente pós-exercício	109,5 ^A			
10 min pós-exercício	96,7 ^{AB}			
20 min pós-exercício	101,8 ^A			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 16,1 %.

A maior concentração de colesterol imediatamente após o exercício é decorrente do aumento da viscosidade do plasma, devido a hemoconcentração (KINGSTON, 2008). Todavia, os valores encontrados estão dentro dos níveis referenciais para a espécie (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

As concentrações séricas de Ureia (Tabela 33) e Creatinina (Tabela 34) durante o exercício, não foram influenciadas pela adição de aflatoxina na dieta (P>0,05).

Tabela 33 – Ureia (mg dL⁻¹) sérica de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	Ureia (mg dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	37,5 ^{AB}	NS	0,0000	0,4247
Imediatamente pós-exercício	36,2 ^{BC}			
10 min pós-exercício	28,8 ^{EF}			
20 min pós-exercício	30,0 ^{DEF}			
60 min pós-exercício	32,1 ^{AB}			
3 hr pós-exercício	30,2 ^{DEF}			
6 hr pós-exercício	33,4 ^{BCD}			
12 hr pós-exercício	37,1 ^{AB}			
24 hr pós-exercício	42,6 ^A			
48 hr pós-exercício	26,3 ^F			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 10,4 %

Tabela 34 – Creatinina (mg dL⁻¹) sérica de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta até 48 horas

Tempo	Creatinina (mg dL ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	1,4 ^A	NS	0,0000	NS
Imediatamente pós-exercício	0,7 ^B			
10 min pós-exercício	0,7 ^B			
20 min pós-exercício	0,7 ^B			
60 min pós-exercício	0,5 ^D			
3 hr pós-exercício	0,6 ^{CD}			
6 hr pós-exercício	0,7 ^B			
12 hr pós-exercício	0,8 ^B			
24 hr pós-exercício	0,7 ^{BC}			
48 hr pós-exercício	0,5 ^D			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 10,5 %

A concentração sérica de ureia foi pouco influenciada pelo exercício. A uréia plasmática é resultado do catabolismo de aminoácidos, podendo ser influenciada por exercícios de longa duração e alta intensidade Fazio et al. (2011). Snow et al. (1982) esclareceu que a via preferencial de geração de energia utilizada pelo animal é a glicolítica e anaeróbica, compatível com as condições do exercício teste deste experimento. Assim as variações da concentração de ureia, no decorrer do tempo, possivelmente são decorrentes do catabolismo do nitrogênio, oriundo da alimentação dos animais, pois os mesmos foram alimentados diversas ocasiões, de acordo com o programa alimentar da Unidade.

Por outro lado, a concentração sérica de creatinina durante o exercício foi inferior ao valor basal, o que não é o esperado. De acordo com Fazio et al. (2011) durante o exercício ocorre aumento das concentrações plasmáticas de creatinina devido a maior utilização de

fosfocreatina para a geração de energia muscular. Castejón et al. (2006) observaram que este aumento é diretamente proporcional a intensidade do exercício. Os valores estão abaixo dos encontrados por Santiago et al. (2013) avaliando o exercício com cavalos de Concurso Completo de equitação (CCE) e Godoi et al. (2009) avaliando dietas hiperlipidêmicas para equinos e também abaixo dos valores de referência para a espécie segundo Rose; Hodgson (1984).

4.4.3 Parâmetros enzimáticos

As enzimas AST, CK, LDH e GGT não foram influenciadas pelos níveis de aflatoxina na dieta ($P>0,05$), sendo, todavia, influenciadas pelo exercício, demonstrado nos tempos de coleta.

Tabela 35 – Atividade da CK ($U L^{-1}$) de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	CK ($U L^{-1}$)	Significância ($P< 0,05$)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	328,4 ^{BC}	0,3226	0,0000	NS
Imediatamente pós-exercício	288,5 ^C			
10 min pós-exercício	343,3 ^{BC}			
20 min pós-exercício	484,3 ^A			
60 min pós-exercício	399,9 ^{AB}			
3 hr pós-exercício	296,5 ^C			
6 hr pós-exercício	308,7 ^{BC}			
12 hr pós-exercício	139,7 ^D			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P>0,05$);
Coeficiente de Variação (CV): 27,8%

Tabela 36 – Atividade da AST ($U L^{-1}$) de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	AST ($U L^{-1}$)	Significância ($P< 0,05$)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	291,7 ^{ABC}	0,0671	0,0000	0,1279
Imediatamente pós-exercício	326,6 ^A			
10 min pós-exercício	245,6 ^{CD}			
20 min pós-exercício	255,9 ^{BCD}			
60 min pós-exercício	268,6 ^{ABC}			
3 hr pós-exercício	209,2 ^D			
6 hr pós-exercício	292,3 ^{ABC}			
12 hr pós-exercício	311,4 ^{AB}			
24 hr pós-exercício	304,2 ^{ABC}			
48 hr pós-exercício	207,5 ^D			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P>0,05$);
Coeficiente de Variação (CV): 16,4 %.

A atividade da CK e da AST alteram em lesões musculares ou no exercício, estando relacionado ao aumento da permeabilidade celular por ação do lactato (Fazio et al. 2011).

Observando a atividade da CK (Tabela 34), verificou-se que ocorreu pico de atividade aos 20 minutos após o exercício (M3), com tendência de retorno aos valores basais 3 horas após o exercício (M5). O-Oosterbaan (1998) relatou que a meia vida plasmática de CK é muito curta, em torno de 2 horas, resultado compatível com o observado neste experimento. Os valores médios de CK se mostraram superiores àqueles observados por Oliveira et al. (2014) em equinos da raça BH, em exercício progressivo em esteira. Harris et al. (1990) relataram que alguns animais podem ter altas atividades enzimáticas fisiológicas da CK, ou ainda, que suas enzimas são removidas mais lentamente da circulação, ou alguns animais podem apresentar maior sensibilidade quanto a permeabilidade da membrana muscular celular com estímulo semelhante de outros animais.

A atividade sérica da AST (Tabela 36) apresentou resultado padrão ao exercício (THOMASSIAN et al. 2007). Observou-se pico da AST imediatamente após o exercício (M1) e tendência de elevação 6 horas pós-exercício (M6). As maiores concentrações imediatamente após o exercício (M1) estão relacionadas ao processo fisiológico de transferência de fluido para o espaço extra vascular durante o exercício resultando em maior atividade dessa enzima por volume plasmático, com retorno aos valores basais 30 minutos (KINGSTON, 2008).

A LDH (Tabela 37) não apresentou distribuição padrão em resposta ao exercício, sendo observados picos enzimáticos 12 horas pós-exercício (M7).

Os resultados observados foram superiores aos valores observados por Oliveira et al. (2014) para equinos em exercício progressivo em esteira. No entanto, estão próximos aos valores médios observados por Lacerda et al (2006) para equinos da raça BH, que foram de 583 ± 200 UI/L. Possivelmente esses resultados possam ter sido influenciados pelo processamento da amostra, pois a concentração de LDH pode ser alterada por hemólise (O-OOSTERBAAN, 1998; GONZALEZ; SILVA, 2006).

Tabela 37 – Atividade da LDH ($U L^{-1}$) de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	LDH ($U L^{-1}$)	Significância ($P < 0,05$)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	932,0 ^{ABC}	0,2882	0,0000	NS
Imediatamente pós-exercício	750,2 ^{BC}			
10 min pós-exercício	733,9 ^{BC}			
20 min pós-exercício	693,9 ^C			
60 min pós-exercício	1169,8 ^{AB}			
3 hr pós-exercício	806,2 ^{ABC}			
6 hr pós-exercício	938,7 ^{ABC}			
12 hr pós-exercício	1257,4 ^A			
24 hr pós-exercício	1156,5 ^A			
48 hr pós-exercício	823,9 ^{ABC}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$); Coeficiente de Variação (CV): 36,5%

A atividade da GGT no exercício (Tabela 38), não foi influenciada pela presença de aflatoxina na dieta ($P > 0,05$).

Tabela 38 – Atividade da GGT (U L⁻¹) de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	GGT (U L ⁻¹)	Significância (P< 0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	6,2 ^{CD}	NS	0,0000	0,1161
Imediatamente pós-exercício	7,2 ^{BCD}			
10 min pós-exercício	7,2 ^{BCD}			
20 min pós-exercício	6,2 ^{CD}			
60 min pós-exercício	9,6 ^{AB}			
3 hr pós-exercício	7,8 ^{BC}			
6 hr pós-exercício	7,3 ^{BCD}			
12 hr pós-exercício	9,7 ^{AB}			
24 hr pós-exercício	11,8 ^A			
48 hr pós-exercício	5,0 ^D			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);

Coefficiente de Variação (CV): 38,5 %

O aumento da atividade da GGT é indicativo de danos hepáticos, colestase e proliferação dos dutos biliares em todas as espécies animais (KERR, 2002; KINGSTON, 2008). Animais submetidos ao condicionamento físico por período prolongado podem apresentar elevação na atividade da GGT (BALARIN et al. 2005). A GGT apresentou pico de atividade cerca de 60 minutos após o exercício (M4), oscilando por até 24 horas (M7). O período de treinamento físico pré-exercício foi de 3 semanas, curto, quando comprado aos 12 meses de treinamento citados por Balarin et al. (2005). Todavia, os valores observados foram dentro dos níveis basais da espécie que variam de 4,3-13 (U L⁻¹) (THOMASSIAN et al. 2005).

A atividade da FAL no exercício (Tabela 39) foi influenciada pela inclusão de aflatoxina na dieta (P<0,05), apresentando maior valor para o tratamento com 100 ppb de AFB₁.

Tabela 39 – Atividade da FAL (U L⁻¹) de equinos submetidos ao exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

FAL (U L ⁻¹)	Tratamentos			Significância		
	Controle	50 ppb	100 ppb	AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
	51,75 ^B	56,25 ^{AB}	76,31 ^A	0,0227	0,3679	0,3625

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);

Coefficiente de Variação (CV): 18,5%

A FAL é uma enzima amplamente distribuída no organismo, sendo que a isoforma hepática é a que predomina no soro, sendo indicativa de danos hepáticos em equinos (KERR, 2002). Kingston (2008) relatou que aumento na atividade da FAL no soro dos equinos ocorre no exercício prolongado, não sendo claro se esse aumento é de origem esquelética ou hepática. Trueman et al. (1983) afirmaram que aumentos na FAL são frequentemente inexplicados e que a enzima pode ter origem nos ossos, intestino e em lesões hepatobiliares, sendo que concentrações entre 0-599 UI/L são consideradas normais. Nesta pesquisa, os animais foram submetidos ao condicionamento físico por três semanas e, embora, alguns animais apresentassem melhor condicionamento físico, os resultados referem-se as médias

dos tratamentos, sendo a atividade da FAL no tratamento de 50 ppb superior ao controle e o de 100 ppb, superior aos demais. Os animais não apresentaram sintomatologia clínica relacionada ao aparelho gastrointestinal no período de observação. Hank et al. (1993) observaram que em equinos adultos, somente 17,9% da FAL sérica é de origem óssea. Assim, depreende-se que o resultado observado se refere, possivelmente, a FAL de origem hepática estando sua atividade diretamente influenciada pela concentração de AFB₁ da dieta, que poderia ocasionar lesões hepáticas no grupo com maior núcleo toxigênico. Todavia, os resultados observados encontram-se dentro dos valores clínicos considerados normais para a espécie, de acordo com Trueman (1983).

4.4.4 Glicose e lactato

As concentrações séricas de Glicose (Tabela 40) e Lactato (Tabela 41), não foram influenciadas pela inclusão de aflatoxina na dieta ($P > 0,05$).

Tabela 40 – Glicose (mg dL^{-1}) sérica de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes concentrações de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	Glicose (mg dL^{-1})	Significância ($P < 0,05$)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	99,0 ^A	NS	0,0000	NS
Imediatamente pós-exercício	57,3 ^E			
10 min pós-exercício	66,2 ^{DE}			
20 min pós-exercício	67,8 ^{DE}			
60 min pós-exercício	76,2 ^{ABCD}			
3 hr pós-exercício	63,6 ^{DE}			
6 hr pós-exercício	71,4 ^{BCDE}			
12 hr pós-exercício	89,6 ^{AB}			
24 hr pós-exercício	87,9 ^{ABC}			
48 hr pós-exercício	68,6 ^{CDE}			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey ($P > 0,05$);
Coeficiente de Variação (CV): 20,2%.

Concentrações de glicose e lactato refletem o metabolismo energético do equino e a performance. Tendo em vista que o fígado exerce um papel centralizador no metabolismo, sintetizando e distribuindo nutrientes aos órgãos periféricos pela circulação sanguínea (Gonzalez e Silva, 2006), esperava-se que micotoxinas hepatotóxicas pudessem influenciar no metabolismo hepático e na resposta do animal ao exercício, o que não ocorreu. Maior concentração de glicose foi observado no período de repouso (pré-exercício). Segundo Kerr (2002) a concentração de glicose aumenta no exercício, devido a descarga de adrenalina. Neste exercício, observou-se diminuição nos níveis de glicose, que passou a ser recomposta a partir da alimentação do animal. Para Pösö et al. (2004), alterações na concentração de glicose dependem do tipo de exercício, podendo aumentar ou diminuir no exercício de curta duração. Os valores séricos observados para glicose foram superiores aos observados por Santiago et al. (2013), em equinos da raça Brasileiro de Hipismo (BH) em fase inicial de treinamento em Concurso Completo de Equitação, observados até o momento M4. Os valores de glicose estão dentro dos níveis séricos da espécie (ROSE; HODGSON, 1994).

Tabela 41 – Lactato (mmol dL⁻¹) sérico de equinos submetidos a exercício e alimentados com diferentes níveis de AFB₁ na dieta

Tempos de coleta	Lactato (mmol dL ⁻¹)	Significância (P<0,05)		
		AFB ₁	Tempo	AFB ₁ *Tempo
Pré-exercício	0,9 ^C	0,927	0,0000	NS
Imediatamente pós-exercício	3,2 ^A			
10 min pós-exercício	1,8 ^B			
20 min pós-exercício	1,7 ^B			
60 min pós-exercício	1,5 ^B			
3 hr pós-exercício	1,4 ^B			
6 hr pós-exercício	1,7 ^B			

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Tukey (P>0,05);
Coeficiente de Variação (CV): 19,6%

O pico na concentração de lactato ocorreu imediatamente após o exercício (M1). De acordo com Evans et al. (2002), em equinos submetidos a exercícios de intensidade máxima, observa-se o pico da concentração de lactato nos minutos iniciais do período de recuperação. O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o produto final da glicólise anaeróbica. Em condições de anaerobiose, como na atividade física intensa ou prolongada, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico, em reação intermediada pela enzima Lactato desidrogenase (KANEKO et al. 2008). O Tempo de retorno do lactato aos níveis basais é uma medida do condicionamento físico dos animais (EVANS et al. 1995). Os valores encontrados neste estudo são semelhantes aos observados por Santiago et al. (2013) trabalhando com cavalos BH iniciantes em CCE, que verificou pico de lactato imediatamente pós-exercício (M1) e tendência de retorno aos níveis basais 60 minutos pós-exercício, no momento M4.

4.5 Digestibilidade dos Nutrientes

As concentrações de aflatoxina nas dietas não influenciaram o consumo dos nutrientes (P>0,05). O consumo médio de matéria seca foi de aproximadamente 2,40 % do peso vivo, adequado para animais com média de 450 kg, conforme NRC (2007), (Tabela 41).

Tabela 42 – Consumo e coeficientes médios de digestibilidade dos nutrientes da dieta, com diferentes concentrações de AFB₁ (na MS)

Variáveis	Controle (0 ppb)	50 ppb	100 ppb	Média	DP ²	CV ³
CMS (PV%) ¹	2,5	2,3	2,4	2,4	0,2	6,8
Matéria Seca (%)	74,0	74,7	75,0	74,6	0,7	0,8
Proteína Bruta (%)	73,9	73,7	74,2	73,9	2,0	3,0
Extrato Etéreo (%)	81,5	81,8	82,6	81,9	1,1	1,3
FDN ⁴ (%)	73,3	73,6	73,7	73,5	0,3	0,4
FDA ⁵ (%)	69,0	68,1	67,1	68,1	2,0	2,9

(1) Consumo de Matéria Seca em Relação ao Peso Vivo; (2) Desvio Padrão; (3) Coeficiente de Variação; (4) Fibra em Detergente Neutro; (5) Fibra em Detergente Ácido;

A presença de micotoxinas na dieta não afetou a digestibilidade dos nutrientes ($P>0,05$). Bryden (2012) observou que contaminações com níveis de DON de 0,7 a 7,6 mg/kg e zearalenona acima de 0,45 mg/kg aumentaram a proteína bruta, a energia metabolizável verdadeira e a disponibilidade dos aminoácidos da aveia e do milho.

A presença de micotoxinas nas concentrações inseridas nas dietas experimentais, bem como possíveis interações entre elas não foram suficientes para alterar o consumo e o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes estudados. Ressalta-se que não foi observado nesta pesquisa recusa dos alimentos, bem como perda de peso nos grupos de animais estudados. Nesse sentido, os equinos não apresentaram efeitos adversos nos parâmetros analisados, nas concentrações de micotoxinas utilizados neste estudo.

As aflatoxinas causam uma série de alterações metabólicas, estando associadas com danos hepáticos, redução das enzimas digestivas e imunossupressão (GLAHN et al. 1994; GIACOMINI et al. 2006; SALIM et al. 2011). Esses efeitos podem ocorrer sob baixos níveis e tempo prolongado de exposição. Além disso, as micotoxinas causam efeitos no intestino e na flora intestinal, que podem ser aditivos ou sinérgicos quando múltiplas micotoxinas estão presentes. Dessa forma, as micotoxinas podem influenciar na composição e/ou na fermentação dos produtos da microbiota intestinal e assim, afetar a saúde a performance dos animais (BROOM, 2015). Concentrações de 2 ppm de ZEA não interferiram na digestibilidade das dietas e no metabolismo de suínos (HAUSCHILD et al. 2007). Todavia, dietas contendo DON e ZEA nas concentrações de 10 mg/kg influenciaram na digestibilidade aparente ileal de aminoácidos em suínos (JO et al. 2016).

Este resultado pode ser devido a lesões no epitélio intestinal ocasionado pela ação da micotoxina DON e pela susceptibilidade da espécie, já que os suínos são considerados a espécie mais susceptível (SCHULZ et al. 2015). Sun et al. (2016) verificaram que concentrações de 20 ppb de AFB₁ na dieta, durante cinco semanas, não foram suficientes para afetar as variáveis sorológicas e hematológicas e o crescimento de suínos. Schulz et al. 2015 observaram que equinos alimentados, durante 21 dias, com feno naturalmente contaminado com concentrações de DON variando de 9,37 a 18,6 ppm por kg/MS, correspondendo a ingestão diária de <5 a 75 mg/kg de peso vivo de DON. Os autores não observaram efeitos adversos a saúde dos animais.

Nesta pesquisa, a ingestão média diária de micotoxinas por kg de peso vivo, de acordo com o tratamento, variou de [0 a 6,4] ppb de AFB₁, [4,8 a 5,0] ppb de FB₁, [7,6 a 8,2] ppb de ZEA e [67,7 a 74,2] ppb de DON. Nesse sentido, embora as concentrações utilizadas possam ser consideradas baixas, o período de 28 dias não foi suficiente para observar efeitos detectáveis sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes da dieta.

5. CONCLUSÕES

A presença de aflatoxina B₁ na dieta influenciam as taxas de glóbulos brancos, especialmente os segmentados, sugerindo uma maior resposta imunológicas nos equinos consumindo dietas incrementadas com núcleo toxigênico.

Observa-se maior atividade sérica da creatinaquinase e da fosfatase alcalina nos equinos consumindo dieta com 100 ppb AFB₁, possivelmente decorrente da ação hepatotóxica associada das micotoxinas presentes nos alimentos.

A presença de micotoxinas não influencia as respostas fisiológicas, hematológicas e da bioquímica sanguínea dos equinos em exercício, exceto a atividade da fosfatase alcalina, que apresentou maior atividade no tratamento com 100 ppb de AFB₁, sugerindo ação hepatotóxica associada das micotoxinas presentes nos alimentos.

A presença de micotoxinas não demonstraram afetar o consumo alimentar, bem como a digestibilidade dos nutrientes, nas condições propostas no experimento.

Sugere-se a realização de estudos com outras variáveis e variação no tempo, de modo avaliar o efeito tóxico das micotoxinas nos equinos.

Nas condições propostas neste estudo, verifica-se que as micotoxinas constituem uma ameaça silenciosa para os animais, especialmente os equinos, sugerindo-se o adequado ajuste legal, de forma à proteção dos animais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÜERA, E.I; RUBIO, D.; SANTISTEBAN, R.; AGÜERA, S.; MUNHOZ, A. CASTEJÓN, F.M. Heart Rate And Plasma Lactate Responses to Training in Andalusian Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 15, n. 12, p. 532-536, 1975.

BALARIN, M.R.S.; LOPES, R.S.; KOHAYAGAWA, A.; LAPOSY, C.B.; FONTEQUE, J.H. Avaliação da glicemia e da atividade sérica da aspartato aminotransferase, creatinoquinase, gama-glutamyltransferase e lactato desidrogenase em equinos puro sangue inglês (PSI) submetidos a exercício de diferentes intensidades. **Semina: Ciências Agrárias**, v.26, n.2, p.211-218, 2005.

BALDISSERA, M.A.; SANTURIO, J.M.; CANTO, S.H.; PRANKE, P.H.; ALMEIDA, C.A.A.; SCHIMIDT, C. Aflatoxinas, ocratoxina e zearalenona em alimentos para consumo animal no sul do Brasil - Parte II. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.53, p.5- 10, 1993.

BALOGH, N.; GAÁL, T.; RIBICZEYNE, P.; PETRI, Á. Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 30, n. 4, p. 214-8, 2001.

BERG, J.M.; TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L. **Biochemistry**, 5th Edition, New York. WH Freeman & Co, 2002, 507 p.

BINDER, E. M. Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. **Animal Feed Science and Technology**, v.133, p.149–166, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Portaria MA/SNAD/SFA No. 07, de 09/11/88**. Publicada no Diário Oficial da União de 09 de novembro de 1988 - Seção I, página 21.968, 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Relatório Técnico**. Portaria N^o 130, 24/05/2006. DOU, 25/05/2006-Seção 2, pág. 5, Brasília-DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa N^o 4, DE 23 de fevereiro de 2007**, estabelece o Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos fabricantes de produtos destinados à alimentação animal. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1864199569>>. Acesso em 20/08/16.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Aprova o regulamento técnico sobre limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. **Resolução Nr 7, de 18 de fevereiro de 2011** (DOU Nr 46, de 9 de março 2011, Seção 1, p.72). Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em 10 /01/15.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Revisão do estudo do complexo do agronegócio cavalo**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo>> Acesso em: 29/03/16.

BRASIL. Ministério da Defesa. Exército Brasileiro. **Catálogo de Especificações dos Artigos de Subsistência** (CEAS). Portaria Co Log Nr 06, de 16/10/2012. Brasília. DF, 2012.

BROOM, L. Mycotoxins and the intestine. **Animal Nutrition**, v.1, p. 262-265, 2015.

BRYDEN, W.L. Mycotoxin contamination of feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. **Animal and Feed Sci. and Tech.**, v. 173:134-158, 2012.

CALONI, F.; CORTINOVIS, C. Effects of fusariotoxins in the equine species. **The Veterinary Journal**, v. 186, p. 157–161, 2010.

CALONI, F.; CORTINOVIS, C. Toxicological effects of aflatoxins in horses. **The Veterinary Journal**, v. 188, p. 270–273, 2011.

CARVALHO, M. G.; SILVA, M. B. S. **Hematologia: Técnicas Laboratoriais e Interpretação**. 1ª ed. Ed UFMG, 139 p Il. Belo Horizonte, 1988.

CARLSON, G. P. Coleta de amostras e interpretação dos exames laboratoriais. In SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo, Manole, 1993. Cap 4, p.395-424.

CASTEJÓN, F.; RUBIO, M.D.; AGÜERA, E.I.; ESCRIBANO, B.M.; REQUENA, F.; VIVO, R. Respuesta hematológica y plasmática al ejercicio en cinta rodante. In: LÓPEZ, G.E.V. **Valoración morfofuncional e la selección de reproductores del caballo de Pura Raza Española**. 1 ed. Córdoba: Caja Rural, p.169-196, 2007.

CAST. **Mycotoxins: Risks in plant, Animal and Human Systems**. Report nº 139. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, IA, USA, 2003.

COLES, E. H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3ª ed. Editora Manole. Sao Paulo, 1984, 565p.

CORTINOVIS, C; BATTINI, M.; CALONI, F. Deoxynivalenol and T-2 Toxin in Raw Feeds for Horses. Short Communication. **Journal of Equine Veterinary Science**, n. 32 p. 72-74, 2012.

CHULZE, S. N. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: a review. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, n. 5, p. 651–665, 2010.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. INCT - Ciência Animal. Ed. Suprema, Visconde do Rio Branco, MG. 2012. 214p.

DIAZ, D.E.; WHITLOW, L.W.; HAGLER JR, W.M. Mycotoxins in feed. **Feedstuffs**. n.85, v.37 p.65, 2013.

DILKIN, P.; ZORZETE, P.; MALLMANN, C.A.; GOMES, J.D.F.; UTIYAMA, C.E.; OETTING, L.L.; CORRÊA, B. Toxicological effects of chronic low doses of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁-containing *Fusarium moniliforme* culture material in weaned piglets. **Food and Chemical Toxicology**, Volume 41, n.10, P. 1345–1353, 2003.

DORETTO, J.M; LOBO E SILVA, M. A. M.; LAGOS, M.S. Determinação dos valores de referência para Uréia e Creatinina sérica em equinos. **Boletim Médico Veterinário**, v.3, n.3, p.67-71, 2007.

EVANS, D. L.; RAINGER, J. E.; HODGSON, D. R.; EATON, M. D.; ROSE, R. J. The effects of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 18. p. 422-425, 1995.

EVANS, D. L.; PRIDDLE, T. L.; DAVIE, A.J. Plasma lactate and uric acid responses to Racing in pacing Standardbreds and relationships with performance. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, suppl. p. 131-134, 2002.

FAZIO, F.; ASSENZA, A.; TOSTO, F.; CASELLA, S.; PICCIONE, G.; CAOLA, G. Training and haematochemical profile in thoroughbreds and Standardbreds: A longitudinal Study. **Livestock Science**, n. 141, p. 221-226, 2011.

FINK-GREMMELS, J.; SPRONK, L. Hygienic quality of feed: implications of feed contamination with moulds and mycotoxins on equine health and performance. In: European Equine Health and Nutrition Congress. 6. **Proceedings...**Belgium: 2013. 63-67.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: gênero *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 4, 2008.

GIMENO, A.; QUINTANILLA, J.A. Analytical and mycological study of a natural outbreak of Zearalenone mycotoxicosis in horses. In: Internatitonal Symposium of mycotoxins, National Research Center, Cairo, Egypt. **Proceedings...** p. 387-392, 1983.

GODOI, F.N.; ALMEIDA, F.Q.; GUARIENTI, G.A.; SANTIAGO, J.M.; JÚNIOR, D.G.; NOGUEIRA, Y.C.; BRASILEIRO, L.S. Perfil hematológico e características das fezes de equino consumindo dietas hiperlipidêmicas. **Ciência Rural**, v.39, n.9, p.2571-2577, 2009.

GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária**. 2ª edição. Editora UFRS, 2006, 364 p, il.

GLAHN, R. P.; CAMPEN. D. V.; DOUSA, T. P. Aflatoxin B 1 reduces Na⁺-Pi co-transport in proximal renal epithelium: studies in opossum kidney (OK) cells. **Toxicology**, v.92, p. 91 – 100, 1994.

HANK, A. M.; HOFFMANN, W. E.; SANECKI, R.K.; SCHAEFFER, D. J.; DORNER, J.L. Quantitative Determination of Equine Alkaline Phosphatase Isoenzymes in Foal and Adult Serum. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 7, n.1, 1993.

HARRIS, P.A.; SNOW, D.H.; GREET, T.R.; ROSSDALE, P.D. Some factores influencing plasma AST/CK activities in Thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v.9, p.66-71, 1990.

HARVEY, J.W. The erythrocyte: physiology, metabolism and biochemical disorders. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic, 1997. Cap 7, p.395-424.

HAUSCHILD, L.; LOVATTO, P.A.; LEHEN, C. R.; CARVALHO, A. d'A.; GARCIA, G.G.; MALLMANN, C.A. Digestibilidade e metabolismo de dietas de suínos contendo zearalenona com adição de organoaluminossilicato. **Pesq. Agrop. Bras.** v.42, n.2, p.219-224, fev, 2007.

HINTZ, H.F. Nutrition del caballo. **El caballo**. Parte III. Acríbia, Zaragoza, Spain, p.233-247, 1979.

JO, H.; KONG, C.; SONG, M.; KIM, B.G. Effects of dietary deoxynivalenol and zearalenone on apparent ileal digestibility of amino acids in growing pigs. **Animal and Feed Science and Technology**, n. 219, p.77-82, 2016.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th Edition. San Diego; Academic Press, 2008. 932p.

KELLER, K.M.; QUEIROZ, B.D.; KELLER, L.A.M.; RIBEIRO, J.M.M.; CAVAGLIERI, L.R.; GONZÁLEZ-PEREYRA, M.L. DALCERO, A, M.; ROSA, C.A.R. The mycobiota and toxicity of equines feeds. **Veterinary Research Communications**, n.31, p.1037-1045, 2007.

KELLER, K. M. **Estudo sobre a contaminação com espécies toxígenas, potencialmente produtoras de micotoxinas, em rações destinadas a alimentação de equinos**. 64p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2009.

KERR, M.G. **Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 2002, 368p.

KINGSTON, J.K. Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R.J. **Equine Exercise Physiology**. The Science of Exercise on Athletic Horse. 1ª ed. Ed. Philadelphia Saunders, 2008, p. 939-948.

KOWAL, R.J. ALMOSNY, N.R.P.; CASCARDO, B. Avaliação dos valores hematológicos em cavalos (*Equus caballus*) da raça Puro Sangue Inglês (PSI), submetidos a teste do esforço físico em esteira ergométrica. **Rev. Bras. Ciência Veterinária**, v.13, p.25-31, 2006.

LACERDA, L.; CAMPOS, R.; SPERB, M.; SOARES, E.; BARBOSA, P.; GODINHO, E.; FERREIRA, R.; SANTOS, V.; GONZÁLEZ, F.D. Parâmetros hematológicos e bioquímicos em três raças de cavalos de alta performance do Sul do Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v.11, n.2, p.40-44, 2006.

LIESENER, K.; CURTUI, V.; DIETRICH, R.; MÄRTLBAUER, E.; USLEBER, E. Mycotoxins in horse feed. **Mycotoxin Research**, v. 26, p. 23–30, 2010.

LINDNER, A.E.; Relationships between racing times of Standardbreds and V4 and V200. **Journal of Animal Science**, v.4, p. 88-99, 2010.

LIMA, R.A.S.; SHIROTA, R.; BARROS, G.S.C. **Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos no Brasil**. CEPEA–ESALQ/USP, Piracicaba, 2006, 250p.

LORENZI, T. F. **Manual de Hematologia – Propedêutica e Clínica**. 3ª edição. Editora MEDSI. 2003.

McGOWAN, C. Clinical Pathology in the Racing Horse: The Role of Clinical Pathology in Assessing Fitness and Performance in the Racehorse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.24, p.405-421, 2008.

MARASAS, W.F.O., KELLERMAN, T.S., GELDERBLUM, W.C.A., COETZER, J.A.W., THIEL, P.G. and VAN DER LUGT, J.J. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.55, p.197–203, 1988.

MATOS, M. S.; DE MATOS, P. F. **Laboratório Clínico Médico-Veterinário**. 2ª edição. Livraria Atheneu. Rio de Janeiro. São Paulo, 1988, 325p.

MERCOSUL/GMC (Mercado Comum do Cone Sul/Grupo Mercado Comum). Resolução nº 25 de 2002. **Regulamento Técnico Mercosul sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, amendoim e milho**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/legislacao/#/>. Acesso em: 13 abril 2014.

MERRILL, A. H., Jr., SULLARDS, M. C., WANG, E., VOSS, K. A.; RILEY, R. T., Sphingolipid metabolism: Roles in signal transduction and disruption by fumonisins, *Environ. Health Perspective*, v.109, p. 283–289, 2001.

MEYER, H. **Alimentação de cavalos**. 2ª ed. São Paulo: Ed Varela, 1995. 303p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of horses**. 6.ed.Rev. Washington, D.C.: National Academies Press, 2007, 341p.

OLIVEIRA, J. E. G.; ALMEIDA, F. Q.; GUEDES, C. A. M.; RODRIGUES, R.; OLIVEIRA, C. A. A.; LEITE, G. G.; SILVA, V. P.; TRIGO, P. I. Asymmetries and similarities in horse production in the Southern of Brazil and Argentina: productivity, health and trade aspects. **Revista Brasileira de Saúde e Produção**, v. 16, p. 470-470, 2015.

OLIVEIRA, C.A.A.; AZEVEDO, J. F.; MIRANDA, A.C.T.; SOUZA, B. G.; RAMOS, M.T.; COSTA, A.P.D.; BALDANI, C.D.; SILVA, V.P.; ALMEIDA, F.Q. Hematological and blood Gas Parameters' Response to Treadmill Exercise Test in Eventing Horses Fed Different Protein Levels. **Journal of Equine Veterinary Science**. V. 34, p. 1279-1285, 2014.

O-OOSTERBAAN, S.V. Appropriate blood variables helpful in diagnosing (sub) clinical disease in the horse. In: LINDNER, A. **Conference on Equine Sports Medicine and Science**. Cordoba, Spain. Wageningen Pers: Wageningen, 1998. P. 14-33.

PALUDO, G.R.; McMANUS, C.; DE MELO, R.Q.; CARDOSO, A. G.; MELLO, F. P. S.; MOREIRA, M.; FUCK, B. H. Efeito do Estresse Térmico e do Exercício sobre os Parâmetros Fisiológicos de Cavalos do Exército Brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1130-1142, 2002.

PLACINTA, C.M.; D'MELLO, C.P.F.; MACDONALD, A.M.C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. **Animal Feed Science and Technology**, v. 78, p. 21-37, 1999.

PÖSÖ, A.R.; HYYPPÄ, S.; GEOR, R.J. Metabolic responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, R.J. **Equine Sports Medicine and Surgery**. 1. ed. Philadelphia: Saunders, 2004. p. 771-792.

RAMASAMY, S.; WANG, E.; HENNIG, B.; MERRIL, A. H. Fumonisin B₁ Alters Sphingolipid Metabolism and Disrupts the Barrier Function of Endothelial Cells in Culture. **Toxicology and Applied Pharmacology**, n. 133, p. 343-348, 1995.

RAYMOND, S. L.; SMITH, T. K.; SWAM, H. V. L. N. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on feed intake, metabolism, and indices of athletic performance of exercised horses. **Journal of Animal Science**, 83:1267–1273, 2005.

ROBINSON, N. E. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia: Saunders, 1997. 800p.

REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELTON, D. C. **Equine Internal Medicine**. 2^a ed. Ed. Saunders. Elsevier (USA), 2004. 1.650 p.

ROSS, P. F.; RICE, L. G.; REAGOR, J. C.; OSWEILER G. D.; WILSON, T. M.; NELSON, H. A.; OWENS D. L.; PLATTNER, R. D.; HARLIN, K. A.; RICHARD, J. L.; COLVIN, B. M.; BANTON, M. I. Fumonisin B1 Concentrations in Feeds from 45 Confirmed Equine Leukoencephalomalacia Cases. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.3, p.238-241, 1991.

ROSA, C.A.R.; MIAZZO, R.; MAGNOLI, C. C. M. SALVANO, M.; CHIACCHIERA, S.M.; FERRERO, S.; SAENZ, M.; CARVALHO, E.C.Q.; DALCERO, A. Evaluation of the Efficacy of Bentonite from the South of Argentina to Ameliorate the Toxic Effects of Aflatoxin in Broilers. **Poultry Science**, n. 80, p.139–144, 2001.

ROSE, R.J.; HODGSON, D.R. Hematology and Biochemistry in: HODGSON, D.R.; ROSE.R.J. **The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine**. Philadelphia: Saunders, 1994. Cap 2, p.63-79.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILO-VELOSO, D. Purified Lignin extracted from Eucalyptus grandis (PELI) used as na external marker in digestibility trails in various animal species. In: Paim, N.; Barcelos, J.O.j.; Neto, J.B.; ferreiro, L.; Franke, Berbaridi, M.L.; Dall’Agnol, M. (editores). In: World Conference on Animal Production, 9. Porto Alegre, Brazil. **Proceedings...** UFRGRS: Porto Alegre, 221-223, 2003.

SALIBA, E.O.S.; FARIA, E.P.; RODRIGUEZ, N.M.; MOREIRA, G. R.; SAMPAIO, I.B.M.; SALIBA, J. S, GONÇALVES, L. C.; BORGES, I., BORGES, A.L.C.C. Use of Infrared Spectroscopy to estimate Fecal Output with Marker LIPE. **International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics**, S4:001, p.1-10, 2015.

SANTIAGO, J.M.; ALMEIDA, F.Q.; SILVA, L.L.F.; MIRANDA, A.C.T.; AZEVEDO, J.F.; OLIVEIRA, C.A.A., CARRILHO, S.S. Hematologia e bioquímica sérica de equinos de concurso completo de equitação em treinamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p. 383-392, 2013.

SCHULZ, A-K; KERSTEN, S.; DÄNICKE, S.; COENEN, M.; VERVUERT, I. Effects of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat on feed intake and health status of horses. **Mycotoxin Research**, n.31, p.209–216, 2015.

SHOTWELL, O.L.; HESSELTINE, C.V.; STUBBLEFIELD, R.D.; SORENSON, W.G. Production of aflatoxina on rice. **Applied Microbiology**, n. 14, p. 425-429, 1966.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

SNOW, D.H.; KERR, M.; NIMMO, M. Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse. **The Veterinary Record**, 110:377-384, 1982.

SUISSE. Département Fédéral de L'économie (DFE). Station de Recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP. **Communiqué de Presse**. Confederation Suisse. Date 18.12.2008.

SUN, Y.; PARK, I.; GUO, J.; WEAVER, A.C.; KIM, S.W. Impacts of low level aflatoxin in feed and the use of modified yeast cell wall extract on growth and health of nursery pigs. **Animal Nutrition**, V.1, p. 177-183, 2015.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A twostage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of the British and Grasslands Society**, v. 18, n.1, p.104-111, 1963.

THOMASSIAN, A. **Enfermidade dos cavalos**. 4ª ed. Sao Paulo, Ed Varela, 2005, 573 p.

THOMASSIAN, A.; DE CARVALHO, F.; WATANABE, M. J.; SILVEIRA, V.F.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J. L. de M. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos a teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.44, n.3, p.183-190, 2007.

TRUEMAN, K.F.; LUMSDEN, J.H.; McSHERRY, B.J. Examination of the Origin of Increased Equine Serum Alkaline Phosphatase Concentrations. **Canadian Veterinary Journal**, v. 24, p.108-111, 1983.

USFDA. UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Background Paper in Support of Fumonisin Levels in Animal Feed**: Executive Summary of this Scientific Support Document. Summary of Recommended Levels for Total Fumonisin In Feed. 9/11/2001. Disponível em <<http://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/naturaltoxins/ucm212900.htm>>. Acesso em 15 nov 14.

UNIÃO EUROPEIA. Comunidade Econômica Europeia. **Directiva 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 7 de maio de 2002, relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais**. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32002L0032>>. Acesso em: 24 mai 14.

UNIÃO EUROPEIA. Jornal Oficial da União Europeia, L.285/33, de 1/11/2003. Comunidade Econômica Europeia. **DIRETIVA 2003/100/CE, de 31 de outubro de 2003**, que altera o anexo I da Directiva 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX>> Acesso em: 24 mai 14.

UNIAO EUROPEIA. Jornal Oficial da União Europeia, de 23/8/2006. **Recomendação da comissão de 17/08/2006** sobre a presença de desoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 e HT-2 e fumonisinas em produtos destinados à alimentação animal. Disponível em <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006H0576&rid=6>>. Acesso em: 16 jun. 14.

SAEG. **Sistema de análises estatísticas e genéticas (SAEG)**. Versão 9.1. Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa, MG, 2007. 301p.

SALIM, A.B.; ZOHAI, A.; HEGAZY, A.E.S.; SAID, A. Effect of Some Strains of Probiotic Bactéria Against Toxicity Induced by Aflatoxins. **Journal of American Science**, v.7, p. 772-783, 2011.

SALLES-GOMES, T. L.; ALMEIDA, P. E.; MOREIRA, M.; CANOLA, J. C.; CANOLA, P. A.; SOUZA, A. H. Surto de Leucoencefalomalácia Equina Provocada por Ração Comercial com Concentração de Fumonisina Inferior a 10 ppm. **Ars Veterinária**, 19(3):267-271, 2003.

SANTOS, C.E.P.; SOUTO, F.S.M.; SANTURIO, J.M.; MARQUES, L.C. Leucoencefalomalácia em equídeos da Região Leste de Mato Grosso. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.41, p.1119, 2013.

SORIANO, J.M.; GONZÁLEZ, L.; CATALÁ, A.I. Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. **Progress in Lipid Research**, v.44, p. 345–356, 2005.

SYDENHAM, E. W.; MARASAS, W.F.O.; SHEPHARD, G.S.; THIEL, P. G.; HIROOKAT, E. Y. Fumonisin Concentrations in Brazilian Feeds Associated with Field Outbreaks of Confirmed and Suspected Animal Mycotoxicoses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 994-997, 1992.

THIEL, P. G.; SHEPHARD, G. S.; SYDENHAM, E. W.; MARASAS, W. F. O.; NELSON, P. E.; WILSON, M. T. Levels of Fumonisin B1 and B2 in Feeds Associated with Confirmed Cases of Equine Leukoencephalomalacia. **J. Agric. and Food Chem.**, 39(01): 109-111, 1991.

VENDRIG, J.C.; FINK-GREMMELS, J. Feed contamination with moulds and mycotoxins: consequences for equine health. In: EUROPEAN WORKSHOP ON EQUINE NUTRITION The impact of nutrition on metabolism, 7. Leipzig, Germany. **Proceedings...** Leipzig, Germany, p.146-148, 2014.

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**. v.26, n.1, p.119-128, 1967.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.

VESONDER, R.; HALIBURTON, J.; STUBBLEFIELD, R.; GILMORE, W.; PETERSON, S. *Aspergillus flavus* and Aflatoxins B1, B2, and M, in Corn Associated with Equine Death. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 20, p.151-153, 1991.

VOSS, K.A.; SMITH, G.W.; HASCHEK, W.M. Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, p. 299–325, 2007.

WANG, E.; NORRED, W.P.; BACON, C. W.; RILEYGLL, R.T.; MERRILL, A.H. Inhibition of Sphingolipid Biosynthesis by Fumonisin. Implications for Diseases Associated with *Fusarium Moniliforme*. **The Journal of Biological Chemistry**, 266(22): 14486-14490, 1991.

WANG, E.; ROSS, F.P.; WILSON, T.M.; RILEY, R.T.; MERRILL JR, A.H. Increases in serum sphingosin and sphinganine and decreases complex sphingolipids in ponies, given, feed containing fumonisin, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. **The Journal of Nutrition**, v. 122, n.8, p. 1706-1716, 1992.

WHO. International Agency for Research on Cancer (IARC), Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans: some naturally occurring substances. **Food items and constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins**, v.56, p.397-444, 1993.

ZACHARIASOVA, M.; DZUMAN, Z.; VEPRIKOVA, Z.; HAJKOVA, K.; JIRU, M.; VACLAVIKOVA, M.; POSPICALOVA, M.; FLORIAN, M.; HAJLSLOVA1, J. Occurrence of multiple mycotoxins in European feedingstuffs, assessment of dietary intake by farm animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 193, p. 124–140, 2014.

7. ANEXOS

Anexo A – Relação de animais e peso no experimento

TRAT	RELAÇÃO DE ANIMAIS E PESO NO EXPERIMENTO								
	NR	NOME	DATA	20/06/16	27/06/16	04/07/16	11/07/2016	18/07/2016	MÉDIA
	ORD	ANIMAL	NASCI	PESO	PESO	PESO	PESO	PESO	PESO
1 (controle)	1	OLINDA	2008	428	448	448	473	473	460,5
1 (controle)	2	REALEZA	2010	385	401	401	413	413	407
1 (controle)	3	TREVO	2012	465	473	473	473	473	473
1 (controle)	4	ORGANIZADO	2008	465	473	473	486	486	479,5
2 (50 ppb)	5	TREGUA	2012	459	473	473	473	486	476,25
2 (50 ppb)	6	OPINIAO	2008	471	473	486	486	486	482,75
2 (50 ppb)	7	TAPIRUBA	2012	449	473	473	486	486	479,5
2 (50 ppb)	8	RETINTA	2010	410	448	448	448	448	448
3 (100 ppb)	9	ONDA	2008	434	448	448	448	448	448
3 (100 ppb)	10	TEOTÔNIA	2012	449	448	448	461	461	454,5
3 (100 ppb)	11	TIMOR	2012	441	436	448	448	461	448,25
3 (100 ppb)	12	ONÇA	2008	428	436	436	436	448	439

Anexo B – Resultados da hematologia semanal, por animal

Animal	OLINDA					Tratamento		Controle	
01		DATA							
EXAME	U.M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	7,1	6,3	6,2	5,6				5,4
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	7,64	8,07	7,87	7,04				8,81
Hemoglobina	G/DL	11,1	11,6	11,1	9,7				14,3
HCT	%	33,3	35	34,1	30,4	46,5	38,1	34,9	38,2
MCV	fL ³	44	43	43	43				43
MCHC	%	33,3	33,2	32,6	32				37,5
LYM	10 ³ /MM ³	3,6	2,9	2,5	2,5				2,6
MON	10 ³ /MM ³	1,1	1,0	1,4	1,0				1,4
GRA	10 ³ /MM ³	2,4	2,4	2,3	2,1				1,4

Animal	REALEZA					Tratamento	Controle		
02		DATA							
EXAME	U.M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	7,7	3,9	7,7	6,4				6,5
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	7,35	11,6	7,14	7,62				6,96
Hemoglobina	G/DL	11,4	17,6	10,5	10,8				11,9
HCT	%	34,3	54,5	32,5	35	54,4	82,5	38,4	31,8
VCM	fL	47	47	46	46				46
MCHC	%	33,3	32,3	32,2	30,9				37,5
LYM	10 ³ /MM ³	3,6	2	3,5	2,7				3,2
MON	10 ³ /MM ³	1,7	0,7	1,6	0,8				1,5
GRA	10 ³ /MM ³	2,4	1,2	2,6	2,9				1,8

Animal	TREVO			Tratamento	Controle				
03		DATA							
EXAME	U.M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /mm ³	6,6	5,8	5,9	5,7				5,4
Eritrócitos	10 ⁶ /mm ³	6,75	6,39	6,94	7,02				7,38
Hemoglobina	g/dL	10,4	9,6	10,3	10,3				12,8
HCT	%	30,8	29	31,2	31,8	43,1	35,5	32,0	33,4
MCV	fL	46	45	45	45				45
MCHC	%	33,6	33,2	33	32,3				38,3
LYM	10 ³ /mm ³	3,5	3	3,1	2,9				2,9
MON	10 ³ /MM ³	1,2	1,2	1,0	1,3				1,2
GRA	10 ³ /MM ³	1,9	1,6	1,8	1,5				1,3

Animal	ORGANIZADO					Tratamento	Controle		
04		DATA							
EXAME	U.M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /mm ³	8,1	9,2	9,9	7,5				7,7
Eritrócitos	10 ⁶ /mm ³	6,21	6,63	6,31	7,1				7,36
Hemoglobina	G/DL	9,6	10,3	9,4	10,5				12,8
HCT	%	28,7	30,5	28,7	32,7	46,4	38,3	36,2	33,7
MCV	fL	46	46	45	46				46
MCHC	%	33,6	33,7	32,8	32,1				38,1
LYM	10 ³ /mm ³	3,7	5,7	4,5	3,3				3,9
MON	10 ³ /mm ³	1,9	1,4	2,5	1,3				2,0
GRA	10 ³ /mm ³	2,5	2,1	2,9	2,9				1,8

Animal	TRÉGUA				Tratamento	50 ppb			
05		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	10,2	11,2	9,1	8,4				8,2
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	7,89	7,87	7,53	7,98				8,15
Hemoglobina	G/DL	11,6	11,2	10,5	11,2				13,3
HCT	%	34,1	33,4	32,1	34,3	43,9	38,7	39,3	35,0
MCV	fL	43	42	43	43				43
MCHC	%	34	33,5	32,8	32,7				38,1
LYM	10 ³ /MM ³	5,2	7	5,1	3,5				4,4
MON	10 ³ /MM ³	1,5	1,4	1,2	1,1				1,5
GRA	10 ³ /MM ³	3,5	2,8	2,8	3,8				2,3

Animal	OPINIÃO				Tratamento	50 ppb			
06		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	9,3	11,5	9,0	9,3				7,9
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	6,86	7,79	6,89	8,18				8,01
Hemoglobina	G/DL	11,9	12,5	11,0	13,1				15,0
HCT	%	34,6	39,1	33,8	41,1	53,6	44,0	41,7	40
VCM	fL	50	50	49	50				50
MCHC	%	33,4	32	32,5	31,8				37,5
LYM	10 ³ /MM ³	3,9	6,3	4,1	3,8				3,7
MON	10 ³ /MM ³	1,7	2,4	2,3	1,7				2,1
GRA	10 ³ /MM ³	3,7	2,8	2,6	3,8				2,1

Animal	TAPIRUBA				Tratamento	50 ppb			
07		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	8,0	9,5	8,8	7,5				8,3
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	8,26	8,44	8,41	7,69				8,87
Hemoglobina	G/DL	11,7	11,7	11,4	10,5				14,1
HCT	%	35,1	35,5	35,3	32,6	47,4	39,0	37,6	37,5
VCM	fL	43	42	42	42				42
MCHC	%	33,2	33,1	32,4	32,1				37,6
LYM	10 ³ /MM ³	3,1	4,6	4,2	2,5				3,7
MON	10 ³ /MM ³	1,8	1,6	1,2	1,4				1,6
GRA	10 ³ /MM ³	3,1	3,3	3,4	3,6				3,0

Animal	RETINTA				Tratamento	50 ppb			
8		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	6,2	5,8	6,7	6,2				6,6
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	6,61	6,65	7,01	7,4				8,18
Hemoglobina	G/DL	10,1	10	10,1	10,7				13,6
HCT	%	29,8	29,8	31,2	33,3	49,3	39,9	40,3	36,8
VCM	fL	45	45	45	45				45
MCHC	%	33,8	33,7	32,2	32,1				37,0
LYM	10 ³ /MM ³	2,8	2,8	3,2	2,3				3,1
MON	10 ³ /MM ³	0,7	0,7	0,9	0,9				0,8
GRA	10 ³ /MM ³	2,7	2,3	2,6	3,0				2,7

Animal	ONDA				Tratamento	100 ppb			
9		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	8,4	9,5	9,1	9,3				8,5
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	6,79	7,1	6,49	6,99				7,69
Hemoglobina	G/DL	11,2	11,6	10,6	11,5				14,6
HCT	%	34	35,5	32,4	35,1	48,8	38,8	38,6	38,1
VCM	fL	50	50	50	50				49
MCHC	%	33	32,8	32,9	32,8				38,4
LYM	10 ³ /MM ³	3,1	2,7	2,4	3,0				3,0
MON	10 ³ /MM ³	1,5	1,9	1,9	1,4				1,3
GRA	10 ³ /MM ³	3,8	4,9	4,8	4,9				4,2

Animal	TEOTONIA				Tratamento	100 ppb			
10		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	8,4	9,5	10,1	9,1				8,7
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	7,22	7,99	8,32	8,37				8,34
Hemoglobina	G/DL	10,6	11,5	11,7	11,8				13,4
HCT	%	32,1	35,2	36,5	37,3	44,1	35,6	35,4	36,7
VCM	fL	44	44	44	44				44
MCHC	%	33,1	32,6	32	31,7				36,5
LYM	10 ³ /MM ³	4,1	4,8	5	3,6				4,1
MON	10 ³ /MM ³	1,5	1,5	2	1,8				1,4
GRA	10 ³ /MM ³	2,8	3,2	3,1	3,7				3,2

Animal	TIMOR				Tratamento	100 ppb			
11		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	9	9,0	7,9	7,5				8,1
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	7,87	8,25	8,09	7,72				8,53
Hemoglobina	G/DL	11,9	12,1	11,5	11,1				14
HCT	%	35,1	36,2	35,7	34,3	47,9	38,8	38,1	38,0
VCM	fL	45	44	44	44				45
MCHC	%	33,9	33,3	32,2	32,3				36,9
LYM	10 ³ /MM ³	3,6	3,3	3,2	2,7				3,4
MON	10 ³ /MM ³	1,7	1,1	1,5	1,3				0,9
GRA	10 ³ /MM ³	3,7	4,6	3,2	3,5				3,8

Animal	ONÇA				Tratamento	100 ppb			
12		DATA							
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	10 MIN	20 MIN	18/jul
Leucócitos totais	10 ³ /MM ³	8,4	8,2	7,8	7,9				6,7
Eritrócitos	10 ⁶ /MM ³	6,24	5,63	6,77	6,97				7,0
Hemoglobina	G/DL	9,8	8,8	10,1	10,4				12,1
HCT	%	29,2	26,0	31,1	32,6	46,4	39,3	36,7	32,6
VCM	fL	47	46	46	47				47
MCHC	%	33,6	33,8	32,6	31,8				37,3
LYM	10 ³ /MM ³	2,7	3	2,9	2,9				2,4
MON	10 ³ /MM ³	1,5	1,1	1,3	1,0				0,7
GRA	10 ³ /MM ³	4,2	4,1	3,6	4,0				3,6

C- Resultados da atividade enzimática semanal, por animal

Animal	OLINDA				Tratamento	Controle
1		DATA				
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	18/jul
AST	U/L	256	271	329	295	188
GGT	U/L	7	7	7	3	7
LDH	U/L	340	874	752	582	554
CK	mg/dL	196	277	123	320	423
UREIA	mg/dL	24	27	25	41	22
CREAT	mg/dL	0,94	0,61	1,24	1,33	0,65
FAL	U/L	56	59	40	52	46
COL	mg/dL	102	98	74	95	60
PT	g/dL	6,2	6,3	4,5	5,8	4,2
ALB	g/dL	2,7	2,6	2,0	2,4	1,7
GLOB	g/dL	3,5	3,7	2,5	3,4	2,5

Animal	REALEZA				Tratamento	Controle
2		DATA				
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	18/jul
AST	U/L	278	272	275	335	117
GGT	U/L	7	7	7	4	4
LDH	U/L	728	850	874	1020	726
CK	mg/dL	222	262	166	454	406
UREIA	mg/dL	31	21	16	38	26
CREAT	mg/dL	1,19	0,67	1,28	1,47	0,79
FAL	U/L	61	60	53	71	63
COL	mg/dL	113	100	82	109	37
PT	g/dL	6,4	5,8	4,8	6,3	2,1
ALB	g/dL	2,5	2,3	1,8	2,3	0,8
GLOB	g/dL	3,9	3,5	3,0	4,0	1,3

Animal	TREVO					Tratamento	Controle
3		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	192	278	362	322	302	270
GGT	U/L	4	4	7	4	4	7
LDH	U/L	704	680	655	752	515	882
CK	mg/dL	138	133	133	254	238	291
UREIA	mg/dL	20	28	31	32	31	29
CREAT	mg/dL	0,90	0,73	1,24	1,61	0,69	0,75
FAL	U/L	48	62	42	81	54	57
COL	mg/dL	96	114	85	94	111	102
PT	g/dL	6,6	6,9	4,9	5,8	7,2	6,2
ALB	g/dL	2,3	2,6	1,9	2,2	2,6	2,2
GLOB	g/dL	4,3	4,3	3,0	3,6	4,6	4,0
GLI	mg/dL	0	0	0	131	27	
LACT	mmol/dL	0	0	0	11	27	

Animal	ORGANIZADO					Tratamento	Controle
4		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	210	201	208	201	215	184
GGT	U/L	7	7	7	4	7	7
LDH	U/L	364	412	631	825	338	670
CK	mg/dL	150	190	124	237	185	279
UREIA	mg/dL	31	24	18	41	36	37
CREAT	mg/dL	1,10	0,73	1,17	1,34	0,73	0,79
FAL	U/L	46	52	38	57	47	59
COL	mg/dL	112	83	56	79	100	83
PT	g/dL	7,1	5,4	3,8	5,4	7,2	5,7
ALB	g/dL	2,7	2,2	1,4	2,0	2,8	2,1
GLOB	g/dL	4,4	3,2	2,4	3,4	4,4	3,6
GLI	mg/dL	0	0		99	53	
LACT	mmol/dL	0	0		8	29	

Animal	TRÉGUA				Tratamento	50 ppb	
5		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	18/jul	
AST	U/L	346	328	329	329	162	
GGT	U/L	7	4	4	10	7	
LDH	U/L	534	1044	655	631	211	
CK	mg/dL	277	284	188	582	296	
UREIA	mg/dL	29	32	24	57	28	
CREAT	mg/dL	1,39	0,63	0,91	1,92	0,70	
FAL	U/L	70	78	42	100	34	
COL	mg/dL	104	104	58	66	66	
PT	g/dL	6,3	5,9	3,2	3,6	3,6	
ALB	g/dL	2,7	2,6	1,4	1,6	1,6	
GLOB	g/dL	3,6	3,3	1,8	2,0	2,0	
GLIC	mg/dL	0	0	0	62		
LACT	mmol/dL	0	0	0	10		

Animal	OPINIÃO					Tratamento	50 ppb
6		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	292	368	403	228	395	352
GGT	U/L	7	15	7	4	7	15
LDH	U/L	1311	922	1166	947	865	1192
CK	mg/dL	410	345	198	264	301	517
UREIA	mg/dL	26	22	20	36	40	37
CREAT	mg/dL	1,09	0,69	0,96	1,44	0,89	0,81
FAL	U/L	47	62	55	56	59	54
COL	mg/dL	85	101	50	70	113	89
PT	g/dL	6,0	6,6	3,1	4,6	7,6	6,2
ALB	g/dL	2,3	2,5	1,2	1,7	2,9	2,3
GLOB	g/dL	3,7	4,1	1,9	2,9	3,7	3,9
GLIC	mg/dL	0	0	0	89	68	
LACT	mmol/dL	0	0	0	11	32	

Animal	TAPIRUBA					Tratamento	50 ppb
7		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	298	266	275	302	305	377
GGT	U/L	4	7	7	4	4	7
LDH	U/L	825	437	655	1022	828	1678
CK	mg/dL	194	263	131	302	440	546
UREIA	mg/dL	30	23	28	34	32	26
CREAT	mg/dL	0,78	0,44	0,85	1,22	0,57	0,66
FAL	U/L	94	78	67	118	91	86
COL	mg/dL	113	93	61	98	112	86
PT	g/dL	6,9	5,3	3,5	5,7	7,1	5,5
ALB	g/dL	2,7	2,1	1,4	2,0	2,6	2,3
GLOB	g/dL	4,2	3,2	2,1	3,7	4,5	3,2
GLIC	mg/dL	0	0	0	151	63	
LACT	mmol/dL	0	0	0	11	45	

Animal	RETINTA					Tratamento	50 ppb
8		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	265	321	396	194	318	267
GGT	U/L	10	22	15	29	15	7
LDH	U/L	898	582	655	437	578	1209
CK	mg/dL	285	292	140	178	255	636
UREIA	mg/dL	30	26	26	25	33	29
CREAT	mg/dL	0,78	0,61	0,97	1,06	0,64	0,72
FAL	U/L	55	53	37	30	50	67
COL	mg/dL	107	100	75	52	104	48
PT	g/dL	7,0	6,0	4,4	2,9	6,4	2,7
ALB	g/dL	3,0	2,8	2,0	1,3	3,0	1,2
GLOB	g/dL	4,0	3,2	2,4	1,6	3,4	1,5
GLIC	mg/dL	0	0	0	57	69	
LACT	mmol/dL	0	0	0	5	34	

Animal	ONDA					Tratamento	100 ppb
9		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	237		396	275	322	349
GGT	U/L	7	4	7	7	7	7
LDH	U/L	388		874	680	578	1219
CK	mg/dL	150	374	363	291	187	675
UREIA	mg/dL	29	27	35	34	35	45
CREAT	mg/dL	0,76	0,5	0,58	1,2	0,62	0,66
FAL	U/L	52	106	69	50	66	68
COL	mg/dL	77	155	43	61	98	101
PT	g/dL	4,9	10,9	2,6	3,9	6,5	6,9
ALB	g/dL	2,1	4,6	1,1	1,7	2,8	2,9
GLOB	g/dL	2,8	6,3	1,5	2,2	3,7	4,0
GLIC	mg/dL	0	0	0	90	46	
LACT	mmol/dL	0	0	0	8	30	

Animal	TEOTONIA					Tratamento	100 ppb
10		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	380	426	376	409	417	201
GGT	U/L	7	4	7	4	7	7
LDH	U/L	1311	1293	1287	2064	1630	673
CK	mg/dL	343	480	252	463	432	335
UREIA	mg/dL	36	26	26	37	36	29
CREAT	mg/dL	0,92	0,51	0,96	1,19	0,63	0,52
FAL	U/L	91	103	97	124	99	86
COL	mg/dL	87	99	67	68	104	95
PT	g/dL	5,8	6,6	4,3	4,4	7,0	5,7
ALB	g/dL	2,4	2,6	1,8	1,8	2,8	2,1
GLOB	g/dL	3,4	4,0	2,5	2,6	4,2	3,6
GLIC	mg/dL	0	0	0	127	31	
LACT	mmol/dL	0	0	0	11	40	

Animal	TIMOR				Tratamento	100 ppb
11		DATA				
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	18/jul
AST	U/L	204	241	416	376	369
GGT	U/L	4	8	15	3	7
LDH	U/L	631	947	1773	1069	695
CK	mg/dL	194	314	219	330	590
UREIA	mg/dL	25	24	23	36	28
CREAT	mg/dL	0,75	0,49	1,12	1,36	0,77
FAL	U/L	67	78	94	97	94
COL	mg/dL	89	95	96	110	104
PT	g/dL	4,9	4,9	5,1	5,9	5,4
ALB	g/dL	1,8	1,8	1,9	2,1	2,1
GLOB	g/dL	3,1	3,1	3,2	3,8	3,3
GLIC	mg/dL	0	0		72	
LACT	mmol/dL	0	0		10	

Animal	ONÇA					Tratamento	100 ppb
12		DATA					
EXAME	U,M	20/jun	27/jun	04/jul	11/jul	PÓS EX	18/jul
AST	U/L	234	263	141	235	337	344
GGT	U/L	7	15	15	4	7	15
LDH	U/L	777	1093	971	1117	743	1311
CK	mg/dL	207	260	200	266	228	313
UREIA	mg/dL	31	24	21	39	39	43
CREAT	mg/dL	1,05	0,71	1,37	1,44	0,75	0,87
FAL	U/L	74	92	77	94	76	62
COL	mg/dL	75	91	82	75	109	101
PT	g/dL	5,2	6,0	5,3	4,9	7,2	7,1
ALB	g/dL	1,9	2,2	2,0	1,9	2,7	2,6
GLOB	g/dL	3,3	3,8	3,3	3,0	4,5	4,5
GLIC	mg/dL	0	0	0	90	85	
LACT	mmol/dL	0	0	0	9	31	

Anexo D – Resultados fisiológicos do Exercício Teste

EXERCÍCIO TESTE - RESULTADOS FISIOLÓGICOS														
DADOS PRÉ EXERCÍCIO					PÓS EXERCÍCIO									
TRATO	ANIMAL	TR	FC	FR	1 T		2 T		3 T		10 MIN		20 MIN	
					FR	FC	FR	FC	FR	FC	FR	FC	FR	FC
1	OLINDA	37,2	32	12	14	84	15	90	17	102	11	66	9	54
1	REALEZA	37	32	12	13	78	16	96	16	96	10	60	9	54
1	TREVO	37,5			14	84	15	90	16	96	10	60	7	42
1	ORGANIZADO	37,3	32	16	22	132	18	108	21	126	11	66	10	60
2	TREGUA	37	36	20	20	120	20	120	20	120	10	60	8	48
2	OPINIAO	37,3	28	8	20	120	21	126	24	144	10	60	9	54
2	TAPIRUBA	38,2	36	16	16	96	18	108	18	108	12	72	10	60
2	RETINTA	38,3	36	14	18	108	21	126	23	136	11	66	8	48
3	ONDA		36	12	15	90	15	90	14	84	9	54	9	54
3	TEOTONIA	38,1			15	90	18	108	25	150	15	90	10	60
3	TIMOR	37,8	36	12	18	108	21	126	23	138	11	66	10	60
3	ONÇA		28	20	15	90	15	90	17	102	9	54	8	48
TR	Temperatura Retal			FR	Frequência Respiratória				FC	Frequência Cardíaca				
1T	1° Teste			2 T	2° Teste				3T	3° Teste				

Anexo E – Resultados Bioquímicos do Exercício Teste

PLANILHA 11/07 PRÉ-EXERCÍCIO (1° COLETA)													
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	FAL	COL	PT	ALB	GLOB	G	LAC
OLINDA	295	3	582	320	41	1,33	52	95	5,8	2,4	3,4	82	11
REALEZA	335	4	1020	454	38	1,47	71	109	6,3	2,3	4	138	9
TREVO	322	4	752	254	32	1,61	81	94	5,8	2,2	3,6	131	11
ORGANIZADO	201	4	825	237	41	1,34	57	79	5,4	2	3,4	99	8
TRÉGUA	329	10	631	582	57	1,92	100	66	3,6	1,6	2	62	10
OPINIÃO	228	4	947	264	36	1,44	56	70	4,6	1,7	2,9	89	11
TAPIRUBA	302	4	1020	302	34	1,122	118	98	5,7	2	3,7	151	11
RETINTA	194	29	437	178	25	1,06	30	52	2,9	1,3	1,6	57	5
ONDA	275	7	680	291	34	1,2	50	61	3,9	1,7	2,2	90	8
TEOTÔNIA	409	4	2064	463	37	1,19	124	68	4,4	1,8	2,6	127	11
TIMOR	376	3	1069	330	36	1,36	97	110	5,9	2,1	3,8	72	10
ONÇA	235	4	1117	266	39	1,44	94	75	4,9	1,9	3	90	9

PLANILHA 11/07 PÓS-EXERCÍCIO (2º COLETA)													
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	FAL	COL	PT	ALB	GLOB	G	LAC
OLINDA	241	7	418	240	41	0,63	42	95	6,3	2,5	3,8	61	17
REALEZA	318	7	857	452	31	0,69	56	106	6,4	2,5	3,9	37	29
TREVO	302	4	515	238	31	0,69	54	111	7,2	2,6	4,6	27	27
ORGANIZADO	215	7	338	185	36	0,73	47	100	7,2	2,8	4,4	53	29
TRÉGUA	350	4	661	220	45	0,83	61	115	6,8	2,8	4	69	19
OPINIÃO	395	7	865	301	40	0,89	59	113	7,6	2,9	4,7	68	32
TAPIRUBA	305	4	828	440	32	0,57	91	112	7,1	2,6	4,5	63	45
RETINTA	318	15	578	255	33	0,64	50	104	6,4	3	3,4	69	34
ONDA	322	7	578	187	35	0,62	66	98	6,5	2,8	3,7	46	30
TEOTÔNIA	417	7	1630	432	36	0,63	99	104	7	2,8	4,2	31	40
TIMOR	400	4	991	284	35	0,76	98	147	8,3	3,1	5,2	79	42
ONÇA	337	7	743	228	39	0,75	76	109	7,2	2,7	4,5	85	31

PLANILHA 11/07 +10MIN													
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	FAL	COL	PT	ALB	GLOB	G	LAC
OLINDA	145	7	345	223	29	0,59	38	81	5,6	2,3	3,3	70	7
REALEZA	226	7	828	476	27	0,77	49	132	8,4	3	5,4	75	13
TREVO	249	7	583	148	27	0,76	58	73	4,8	1,8	3	33	22
ORGANIZADO	139	7	491	236	27	0,73	33	106	7,9	3	4,9	79	15
TRÉGUA	270	7	546	376	38	100	74	84	5,1	2,2	2,9	74	16
OPINIÃO	278	7	716	491	31	0,81	60	82	5,8	2,2	3,6	70	13
TAPIRUBA	357	7	1831	384	27	0,55	50	139	9,6	3,7	5,9	47	19
RETINTA	242	15	653	372	30	0,82	52	85	5,4	2,5	2,9	70	23
ONDA	415	4	554	221	23	0,66	94	65	4,5	1,9	2,6	62	23
TEOTÔNIA	302	4	653	573	28	0,58	81	67	4,4	1,7	2,7	49	20
TIMOR	181	7	1061	338	33	0,78	72	159	9,4	3,3	6,1	92	24
ONÇA	144	7	546	282	26	0,71	81	87	6	2,2	3,8	74	14

PLANILHA 11/07 +20MIN													
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	FAL	COL	PT	ALB	GLOB	G	LAC
OLINDA	195	7	369	410	28	0,7	11	81	5,6	2,4	3,2	75	11
REALEZA	273	7	1049	568	31	0,77	126	94	5,9	2,2	3,7	73	15
TREVO	152	4	342	253	30	0,79	57	127	8,1	3	5,1	59	16
ORGANIZADO	160	4	313	347	28	0,8	41	87	6,2	2,3	3,9	74	16
TRÉGUA	291	4	447	374	45	0,93	68	137	8,3	3,6	4,7	74	16
OPINIÃO	296	7	1073	675	33	0,7	80	87	6	2,2	3,8	68	13
RETINTA	365	4	804	585	29	0,74	40	94	5,7	2,6	3,1	67	20
TAPIRUBA	246	4	619	809	30	0,59	50	111	7,4	2,7	4,7	64	23
ONDA	245	7	729	483	17	0,6	137	76	5,1	2,2	2,9	70	16
TEOTÔNIA	395	4	1394	498	27	0,6	50	94	6,5	2,6	3,9	37	25
TIMOR	203	7	690	323	37	0,83	209	149	8,3	3	5,3	73	25
ONÇA	250	15	498	486	25	0,76	217	85	5,7	2,1	3,6	80	15

PLANILHA 11/07 +3H								
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	G	LAC
OLINDA								
REALEZA	225	4	610	306	26	0,55	53	11
TREVO	171	7	459	153	32	0,68	60	14
ORGANIZADO								
TRÉGUA	255	7	415	272	38	0,74	59	12
OPINIAO								
TAPIRUBA	197	7	678	617	28	0,57	68	17
RETINTA	191	15	454	214	26	0,63	68	14
ONDA	203	7	889	141	24	0,48	45	11
TEOTÔNIA	192	7	950	367	27	0,52	61	16
TIMOR	207	7	661	226	36	0,65	59	18
ONÇA								

PLANILHA 11/07 +6H								
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	G	LAC
OLINDA	257	7	546	219	28	0,67	66	13
REALEZA	287	77	884	415	33	0,73	73	17
TREVO	303	15	787	185	34	0,89	78	14
ORGANIZADO	193	7	673	182	33	0,77	73	17
TRÉGUA	354	7	731	267	50	0,91	70	16
OPINIÃO	324	7	879	289	34	0,81	76	23
TAPIRUBA	326	7	937	690	332	0,68	76	21
RETINTA	292	4	1122	270	31	0,55	73	15
ONDA	324	7	884	287	32	0,6	74	22
TEOTÔNIA	366	4	1821	415	32	0,59	69	17
TIMOR	265	4	1365	277	31	0,63	65	18
ONÇA	217	7	636	209	31	0,71	64	20

PLANILHA 11/07 +12H							
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	G
OLINDA	272	7	459	97	33	0,7	85
REALEZA	317	7	1370	223	40	0,8	95
TREVO	319	7	1591	75	38	0,83	90
ORGANIZADO	202	7	852	87	35	0,79	85
TRÉGUA	327	7	865	226	46	0,95	83
OPINIÃO	343	15	1438	138	40	0,87	84
TAPIRUBA	355	7	1175	187	32	0,66	107
RETINTA	309	15	580	107	34	0,7	84
ONDA	312	15	1190	90	34	0,67	86
TEOTÔNIA	390	7	2492	189	35	0,65	93
TIMOR	283	7	1294	146	38	0,75	81
ONÇA	308	15	1783	112	40	0,85	103

PLANILHA (+24 H - 12/07)							
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	G
OLINDA	248	12	605	332	36	0,65	90
REALEZA	309	7	1336	360	39	0,68	84
TREVO	309	10	1202	226	41	0,76	87
ORGANIZADO	221	12	1326	249	43	0,74	82
TRÉGUA	322	11	1112	483	50	0,84	86
OPINIÃO	302	10	913	388	46	0,75	89
TAPIRUBA	356	8	1520	305	40	0,59	98
RETINTA	282	20	631	221	44	0,65	86
ONDA	295	12	874	194	39	0,62	86
TEOTÔNIA	382	13	1678	416	40	0,56	81
TIMOR	335	11	1464	352	45	0,71	87
ONÇA	282	16	1217	305	49	0,78	99

PLANILHA 13/07 (+48H)							
	TGO	GGT	LDH	CK	U	CR	G
OLINDA	225	7	614	721	27	0,57	81
REALEZA	221	8	767	194	28	0,63	75
TREVO	238	3	653	416	25	0,68	80
ORGANIZADO	131	4	542	111	27	0,57	63
TRÉGUA	175	4	430	138	30	0,56	60
OPINIÃO	239	4	1137	582	35	0,7	76
TAPIRUBA	248	4	1343	166	26	0,48	84
RETINTA	142	9	491	111	19	0,37	44
ONDA	162	4	408	83	21	0,41	50
TEOTÔNIA	269	4	1326	249	27	0,49	69
TIMOR	246	4	942	221	23	0,55	62
ONÇA	194	5	1234	221	27	0,58	79

Anexo F – Composição Bromatológica dos alimentos utilizados no experimento (1)

MATERIAL	MS%	PB%	EE%	FB%	NDT%	DIVMS
Ração comercial cavalo	87,16	9,76	3,13	3,42	59,88	94,63
Feno alfafa	90,32	17,34	2,97	FDN=52,30/ FDA=34,12	54,98	59,21
Feno tífton	89,14	10,25	2,01	FDN=74,31/ FDA=40,23	62,31	64,24

Anexo G – Análise proximal das fezes dos equinos experimento (1)

Nr ord	Animal	PB%	EE%	FDA%
01	ONÇA	13,05	1,76	5,22
02	ONDA	13,05	2,01	5,27
03	TIMOR	12,64	1,98	5,34
04	OLINDA	12,95	1,93	5,47
05	RETINTA	13,81	1,96	5,50
06	TAPIRUBA	13,16	1,95	5,52
07	OPINIAO	12,71	1,89	5,45
08	TREVO	11,47	2,11	5,55
09	TREGUA	11,70	2,03	5,48
10	TEOTONIA	12,14	1,90	5,49
11	ORGANIZADO	13,76	1,95	5,48
12	REALEZA	11,43	1,77	5,24

(1) Análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da UFMG,