CAMILA BIANCONI

**Avaliação da suplementação com levedura viva sobre a imunidade
de éguas gestantes e potros**

Pirassununga

2019

CAMILA BIANCONI

Avaliação da suplementação com levedura viva sobre a imunidade de éguas gestantes e potros

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

Departamento:

Departamento de Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso

Pirassununga

2019

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 3749 FMVZ	<p>Bianconi, Camila</p> <p>Avaliação da suplementação com levedura viva sobre a imunidade de éguas gestantes e potros / Camila Bianconi. – 2019.</p> <p>92 f. : il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2019.</p> <p>Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.</p> <p>Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.</p> <p>1. Desempenho. 2. Equinos. 3. Imunidade passiva. 4. Neonato. I. Título.</p>
-----------------	---

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da suplementação com beta glucanos e mananos (MOS) na imunidade de éguas gestantes e potros", protocolada sob o CEUA nº 3576230217 (ID 005693), sob a responsabilidade de **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso e equipe; Fernanda Rudolf Gonzalbo Garcia** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 18/10/2018.

We certify that the proposal "Evaluation of supplementation with beta glucans and mannans (MOS) in pregnant mares and foals immunity", utilizing 16 Equines (16 females), protocol number CEUA 3576230217 (ID 005693), under the responsibility of **Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso and team; Fernanda Rudolf Gonzalbo Garcia** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 10/18/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **05/2017** a **05/2018**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Prefeitura do Campus da USP de Pirassununga**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **4 a 13 anos**

N: **16**

Linhagem: **SRD**

Peso: **400 a 800 kg**

Local do experimento: Laboratório de Pesquisas em Alimentação e Fisiologia do Exercício em Equinos (LabEqui) do Campus Fernando Costa.

São Paulo, 31 de janeiro de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BIANCONI, Camila

Título: Avaliação da suplementação com levedura viva sobre a imunidade de éguas gestantes e potros

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por iluminar o meu caminho e decisões, sempre me dando forças nos momentos que mais preciso.

Ao meu mentor professor Alexandre Gobesso, que me abriu as portas e me deu a oportunidade desse mestrado, pela confiança que sempre depositou em meu trabalho e o mais importante, me deu a felicidade de trabalhar com este tema que tenho tanto apreço e que me deu tamanha satisfação. Obrigada por todos ensinamentos e conselhos, de cavalos e da vida.

Aos meus pais, Antônio e Marisa obrigada por toda a educação que me deram, por todo apoio e suporte, tudo o que eu conquistei foi graças a vocês, sem vocês nada disso seria concretizado. Obrigada também meus irmãos Danilo e Michelle vocês são a minha base e minha inspiração, me orgulho muito de ter vocês como irmãos, pela garra, determinação e principalmente pelo caráter de vocês. À você Rafinha, obrigada por ter mudado a minha vida, você é o meu maior amor e minha saudade diária, dói ver você crescer e não estar presente no seu dia a dia.

Agradeço à Fernanda Rudolf por compartilhar esse projeto comigo, sei do amor que você tem por ele e espero ter realizado da melhor forma possível, saiba que esse projeto sempre será nosso.

À professora Carol Porto por toda ajuda com a elaboração desse projeto, por todas as dúvidas tiradas minha e da Fer, que não foram poucas e também pelas análises realizadas.

Agradeço a todos que contribuíram na execução desse projeto em especial aos meus amigos Saulo e Murillo por toda dedicação e amor que vocês tiveram com ele, sem vocês eu não teria conseguido. Vocês fizeram todas as noites e madrugadas de plantões serem prazerosas e foi tudo mais fácil com vocês ao meu lado, morro de saudades das nossas madrugadas de partos e coletas, muito obrigada!

A todas as minhas mães e meus filhos geração M, vocês pra sempre vão morar no meu coração, obrigada por serem tão amáveis, saibam que morro de orgulho quando vão visitar o Labequi e falam o tanto que vocês são lindos. Mesmo nas ocasiões que estava cansada ver a carinha de vocês chegando ao mundo me

mostrava que estava no caminho certo e nada me trazia mais felicidade do que esses momentos.

Aos funcionários Fernando, Roberlei, Vítor e André obrigada por toda colaboração, sempre que precisei vocês estavam lá pra me ajudar. Dani Passarelli e Lígia Garcia agradeço muito por todo o empenho que vocês tiveram com as análises e por toda orientação que recebi de vocês.

Ao prof. Júlio Balieiro pela realização das análises estáticas, por toda disponibilidade e paciência que teve em me explicar todas as vezes que precisei. Ao professor Ricardo Ventura gostaria de agradecer por ser um incentivador de pessoas, nesse meio não é comum ter pessoas como você e por vezes suas palavras me fizeram acreditar que eu conseguiria sim, obrigada e desejo que mais alunos tenham a oportunidade de conviver com você e ter os seus conselhos.

Aos Labequianos, Gabi, Yasmin, Horte, Saulo, Flávia, Fer, Ju obrigada pelas orientações e principalmente pelos bons momentos que tivemos.

Aos meus amados Ic's em especial, Dila, Danone, Lara, Murillo, Paola e Lê obrigada por tudo, mas principalmente por vocês terem me acolhido e cuidado de mim em tantos momentos, não seria capaz de agradecer e mostrar o quanto vocês são importantes pra mim. Vocês são meus "pupilos" e sempre estarei aqui torcendo por vocês.

Aos amigos, Saulo, Japa, Julinha, Horte, Ju Rizzo e Bruno vocês sem dúvidas foram a minha maior conquista, obrigada por tudo, por estarem sempre ao meu lado, vocês fizeram toda diferença e levarei vocês comigo por toda vida.

Aos pós graduandos, em especial Lari, Mel e Rafa e professores do VNP.

À coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pela bolsa concedida.

À empresa Phileo Lesaffre – Animal Care, obrigada pelo financiamento do projeto e todo apoio.

OBRIGADA A TODOS!

*“Sua tarefa é descobrir o seu trabalho e, então, com todo o coração,
dedicar-se a ele”*

Buda

*“Cada um de nós compõe a sua história
Cada ser em si
Carrega o dom de ser capaz
E ser feliz”*

Almir Sater

RESUMO

BIANCONI, C. **Avaliação da suplementação com levedura viva sobre a imunidade de éguas gestante e potros.** [Evaluation of live yeast supplementation on the immunity of pregnant mares and foals]. 2019. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Pensando nas falhas de transferência de imunidade passiva e nos prejuízos gerados para a equideocultura, este projeto visou avaliar a suplementação com levedura viva, *Saccharomyces cerevisiae* vivas na dieta de éguas no terço final da gestação sobre a transferência de imunidade passiva, através da avaliação do colostro, concentração de imunoglobulina, perfil celular e composição e desenvolvimento do sistema imune dos potros. O experimento foi conduzido nas dependências do Laboratório de Pesquisa em Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui), FMVZ/USP no Campus Fernando Costa em Pirassununga/SP. Foram utilizadas dezesseis éguas prenhes sem raça definida, com idade média de 90 ± 7 meses, mantidas em piquetes sem acesso a gramíneas durante todo o período experimental. A dieta foi formulada para atender a exigência da categoria de acordo com NRC 2007, foi composta de feno de gramínea e concentrado, água e sal mineral *ad libitum*. As mesmas foram divididas em dois grupos de oito animais cada, 1) grupo controle: feno de Tifton 85 e concentrado comercial sem suplementação, 2) grupo suplementado: feno de Tifton 85 e ração comercial com suplementação de Actisaf HR Plus Sc 47® - 10 g/animal/dia. O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC), com medidas repetidas no tempo. Foi observado efeito para células mononucleares no colostro no grupo suplementado ($P=0,05$) e para células polinucleares para grupo controle ($P=0,05$). Pode-se concluir que suplementação com levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de éguas no terço final da gestação, melhora a qualidade do colostro no que se refere ao perfil celular porém não melhora a transferência de imunidade passiva dos potros.

Palavras-chave: Desempenho. Equinos. Imunidade passiva. Neonato.

ABSTRACT

BIANCONI, C. **Evaluation of live yeast supplementation on the immunity of pregnant mares and foals.** [Avaliação da suplementação com levedura viva sobre a imunidade de éguas gestantes e potros]. 2019. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Considering the failures of passive immunity transfer and losses generated for equideoculture, this project aimed to evaluate the live yeast supplement *Saccharomyces cerevisiae* in the diet of mares in the final third of gestation on the transference of passive immunity through the evaluation of colostrum, immunoglobulin concentration, cellular profile and composition and development of the immune system of foals. The experiment was conducted at the Laboratory of Research on Digestive Health and Performance of Equines (LabEqui), FMVZ / USP at the Fernando Costa Campus in Pirassununga / SP. Sixteen pregnant mares were used, with mean age of 90 ± 7 months, kept in pickets without access to grasses throughout the experimental period. The diet was formulated to meet the requirement of the category according to NRC 2007, was composed of grass hay and concentrate, water and mineral salt ad libitum. They were divided in two groups of eight animals each, 1) control group: Tifton 85 hay and commercial concentrate without supplementation, 2) supplemented group: Tifton 85 hay and commercial feed with Actisaf HR Plus Sc 47®-10 supplementation g / animal / day. A completely randomized (DIC) design, with measures repeated over time was considered in the model. There was observed a statistical effect of supplementation ($P = 0.05$) over mononuclear cells in colostrum and for polynuclear cells ($P = 0.05$). It can be concluded that supplementation with live yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the diet of mares in the final third of gestation may improve quality of colostrum with respect to the cellular profile, but does not improve the transference of passive immunity of the colts.

Key words: Equines. Neonate. Passive immunity. Performance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Concentrações relativas das principais classes de imunoglobulinas no, colostro e leite dos ruminantes e não-ruminantes	21
Figura 2 Mecanismo de ação dos probióticos. Verde, probiótico; roxo, patógeno	33
Figura 3 Esquema do desenvolvimento experimental	44
Figura 4 Esquema das coletas de colostro das éguas	50
Figura 5 Esquema das coletas sanguíneas dos potros	51
Figura 6 Concentrações de gordura (A), sólidos totais (B), proteína (C), extrato seco desengordurado (D), lactose (E), contagem de células somáticas (F), no colostro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais.....	59
Figura 7 Porcentagem de células mononucleares em relação ao total de células analisadas em diferentes dietas e tempos experimentais	60
Figura 8 Porcentagem de células mononucleares em relação ao total de células analisadas em diferentes dietas e tempos experimentais	61
Figura 9 Concentração de IgG no colostro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais	63
Figura 10 Concentração de TGF- β 1 no colostro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais	65
Figura 11 Concentração de IgG no soro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais	66
Figura 12 Concentração de IgG no soro dos potros em diferentes dietas e tempos experimentais	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Formulação do concentrado fornecido para éguas em gestação e lactação	42
Tabela 2. Análises bromatológicas do concentrado e volumoso fornecido as éguas	42
Tabela 3 Concentrado comercial Max Equinos Creeper, dados fornecidos pela empresa	43
Tabela 4 Prevalência de microrganismos causadores de mastite em éguas em diferentes tempos.....	54
Tabela 5 Prevalência de microrganismos causadores de mastite em éguas dos grupos, controle e tratamento.....	54
Tabela 6 Média $\pm$ erro padrão da composição do colostro das éguas em diferentes tempos experimentais	56
Tabela 7 Média $\pm$ erro padrão da composição do colostro das éguas em diferentes dietas experimentais	58
Tabela 8 Média e erro padrão da média da concentração de IgG no colostro das éguas em diferentes tempos experimentais.....	62
Tabela 9 Média e erro padrão da média das concentrações de IgG no colostro das éguas em diferentes dietas experimentais	62
Tabela 10 Concentração de TGF- β 1 no colostro das éguas em diferentes tempos experimentais.....	64
Tabela 11 Concentração de TGF- β 1 no colostro das éguas em diferentes dietas experimentais.....	64
Tabela 12 Concentração de IgG no soro das éguas em diferentes dietas experimentais	66
Tabela 13 Média $\pm$ erro padrão da concentração de IgG no soro dos potros em diferentes tempos experimentais.....	67
Tabela 14 . Média $\pm$ erro padrão da concentração de IgG no soro dos potros em diferentes dietas experimentais.....	67

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. NUTRIÇÃO DE ÉGUAS GESTANTES.....	17
2.2. COLOSTRO	18
2.2.1. Perfil celular do colostro	22
2.2.2. Fator transformador do crescimento – TGF- β	23
2.2.3. Composição	25
2.3. IMUNIDADE PASSIVA	26
2.4. FALHA DE TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA	28
2.5. SISTEMA IMUNE DO POTRO	29
2.6. PROBIÓTICO	31
2.6.1. Leveduras	34
3. HIPÓTESE.....	38
4. OBJETIVOS	39
4.1. GERAL	39
4.2. ESPECÍFICOS	39
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
5.1. LOCAL.....	40
5.2. ANIMAIS.....	40
5.3. RELAÇÃO NEUTRÓFILO/LINFÓCITO	41
5.4. DIETAS	41
5.5. GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	43
5.6. IMUNIZAÇÃO DAS ÉGUAS COM KEYHOLE LIMPET HEMOCYANIN.....	45
5.7. MONITORAMENTO DO PARTO.....	45
5.8. AVALIAÇÃO DA GLÂNDULA MAMÁRIA	45

5.7.1	Caneca de Fundo Escuro	46
5.8.1.	Análise microbiológica.....	46
5.9.	CCS E COMPOSIÇÃO DO LEITE.....	47
5.10.	AVALIAÇÃO DO PERFIL CELULAR DO COLOSTRO	48
5.11.	DOSAGEM DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS NO COLOSTRO	48
5.12.	DOSAGEM DE TGF-B1	49
5.13.	DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINA G NO SORO	50
5.14.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	52
5.15.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	52
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
6.1.	HIGIEDEZ DOS ANIMAIS	53
6.2.	ANÁLISE MICROBIOLOGICA.....	53
6.3.	COMPOSIÇÃO DO LEITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	56
6.4.	PERFIL CELULAR DO COLOSTRO	60
6.5.	QUANTIFICAÇÃO DE IgG NO COLOSTRO	62
6.6.	QUANTIFICAÇÃO DE TGF-B NO COLOSTRO	64
6.7.	IgG SÉRICO DAS ÉGUAS	66
6.8.	IgG SÉRICO DOS POTROS	67
7.	CONCLUSÃO.....	71
8.	IMPLICAÇÕES.....	72
9.	REFERÊNCIAS	73

1. INTRODUÇÃO

Os neonatos equinos nascem agamaglobulinêmicos, portanto a transferência de imunidade passiva está diretamente relacionada à ingestão e absorção de imunoglobulinas presentes no colostro. Falhas nesse processo podem levar a maior susceptibilidade a infecções neonatais (ELSOHABY; RILEY; MCCLURE, 2018). Durante a fase intrauterina, os potros começam a desenvolver funções imunes, porém de maneira insatisfatória, ao entrarem em contato com microrganismos do ambiente, se inicia o desenvolvimento da resposta imune (FLAMINIO et al., 2000; BOYD et al., 2003; TALLMADGE et al., 2017).

O colostro é a secreção láctea que ocorre no momento do parto, e é constituído de leite e elementos do soro sanguíneo como as imunoglobulinas, principalmente a IgG, IgM e IgA (GIGUÈRE; POLKES, 2005; FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010). A IgG é a mais abundante no colostro das éguas, podendo variar de 65 a 90% das imunoglobulinas totais (TIZARD, 2009). A ingestão de colostro é recomendada nas primeiras 2 horas de vida, e com 18 horas é possível observar o pico máximo da concentração de imunoglobulinas no soro do potro, sendo muito semelhante aos níveis do soro materno. No colostro, os níveis de anticorpos costumam se tornar insignificantes em 24 horas (LIEPMAN et al., 2015).

A importância das imunoglobulinas presentes no colostro é muito discutida, porém pouco se sabe sobre o papel dos leucócitos contidos no colostro em relação à proteção contra infecções. Em animais de produção, como suínos, ovinos e bovinos, estudos demonstraram a presença de número significativo de leucócitos funcionais no colostro que podem aumentar a expressão de marcadores de superfície, indicando ativação (TURNER; ARNS; MINTON, 2003).

Intensos estudos foram recentemente iniciados na busca de métodos alternativos e seguros de prevenção e tratamento de doenças infecciosas. Um dos métodos é a utilização de imunomoduladores inespecíficos, naturais ou sintéticos em fêmeas prenhes, para promover o aumento das imunoglobulinas presentes no colostro. Resultados de sucesso foram obtidos na profilaxia de doenças neonatais

de bovinos, ovinos e suínos. Em éguas prenhes, o que se espera é que também ocorra aumento de anticorpos.

O uso de próbióticos é uma alternativa de suplemento alimentar, devido às suas propriedades antimicrobianas, inibidoras ou redutoras do crescimento de microrganismos patógenos, associada à melhora das barreiras imunológicas no intestino regulando as atividades inflamatórias (OELSCHLAEGGER, 2010).

A adição de levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* à dieta equina é um tema atual quando comparado à utilização em outras espécies. A parede celular das leveduras constitui-se, predominantemente, de β Glucanos e Mananos (MOS). Os mananos, que se encontram presentes em maior proporção na parede celular mais externa, atuam como protetores do mecanismo de defesa do organismo animal, apresentando efeito direto na imunidade local e sistêmica com produção de IgA e IgG. Estudos demonstraram que a manose, na forma de oligossacarídeos (mananoligossacarídeos - MOS), quando adicionada a dietas, reduz a colonização de bactérias patogênicas no intestino do animal (WEESE et al., 2004).

Os β -glucanos estimulam o sistema imune natural, possuem efeito imunomodulador, através da ativação de macrófagos e linfócitos, além da indução da expressão de diversas citocinas (WEESE et al., 2004; MAGNANI; CASTRO-GÓMEZ, 2008). Pesquisas com a utilização de MOS na espécie equina não são muito citadas na literatura, porém os resultados obtidos em estudos anteriores, em outras espécies, sugerem que a suplementação para éguas prenhas pode aumentar os níveis de imunoglobulinas no colostro e protegê-la da colonização de organismos patogênicos no intestino (SPEARMAN, 2004).

Segundo os estudos realizados por Jang et al. (2013) com porcas gestantes e em lactação, suplementadas com diferentes níveis de leveduras vivas *Saccharomyces cerevisiae* Sc47, não houve diferença na composição do leite durante a lactação, exceto pela concentração de IgG no colostro que tende a ser maior nos grupos de porcas suplementadas com leveduras vivas ($P=0.10$) comparado ao grupo controle, resultando em aumento na concentração de IgG plasmática nos leitões 24 horas pós parto ($P<0.05$).

O aumento das concentrações de imunoglobulinas presentes no colostro irá promover maior proteção inicial para o potro contra infecções, resultando em diminuição da morbidade, mortalidade e diminuição dos prejuízos na criação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. NUTRIÇÃO DE ÉGUAS GESTANTES

Em uma criação de equinos espera-se o nascimento de um potro saudável por égua, dentro do intervalo de um ano. Para que isso ocorra é necessário que se tenha éguas e garanhões de boa fertilidade, além de manejos reprodutivo, nutricional e sanitário adequados (CONDITION; ACTIVITY; MARES, 2014).

O impacto de um programa de alimentação de reprodutoras é essencial para o desenvolvimento esquelético do potro e do atleta equino. E, idealmente, a égua estará amamentando e prenhe simultaneamente. A alimentação na fase gestacional vai afetar em parâmetros como, a fertilidade, a produção de leite e a saúde de seus potros (HUNTINGTON et al., 2007).

A égua deve ter uma alimentação equilibrada durante a gestação, incluindo níveis adequados de inclusão de minerais, vitaminas, proteína e energia, sendo esta última particularmente importante que tenha em consideração a própria curva de necessidades nutricionais do período da gestação. O peso corporal de um animal gestante deve aumentar o suficiente para compensar o peso do feto, dos fluidos fetais e da placenta (ALEIXO, 2015).

É muito importante não deixar as éguas gestantes entrarem em balanço energético negativo ou perder muita massa corporal. Para isso, deve-se avaliá-la visualmente, conforme o escore de condição corporal (ECC) estabelecido por Henneke et al. (1983), e por registros periódicos do seu peso (HUNTINGTON et al., 2007).

Preconiza-se em mantê-las com o escore de condição corporal entre 4-6 na escala de 1-9 segundo Henneke et al. (1983), nessa situação as costelas não são tão visíveis por estarem recobertas de gordura, mas facilmente palpáveis (FRAPE, 2007). As éguas idosas requerem uma atenção especial, pois estas têm maior tendência à perda de peso, principalmente por problemas dentários e enfermidades debilitantes. Porém, ainda há a probabilidade em se tratar de síndrome de má absorção ou outras alterações digestivas, sendo que equinos com mais de 20 anos

têm queda acentuada da digestibilidade aparente de proteína, fibra e fósforo (ARGO, 2016).

Para uma a nutrição adequada, as éguas devem ser separadas em 4 categorias nutricionais, sendo estas: éguas solteiras, éguas vazias ou em prenhez inicial, éguas em terço final de gestação e éguas em lactação. Essa divisão deve ser feita porque, embora os componentes da dieta sejam os mesmos, há variações no fornecimento conforme a demanda nutricional em cada fase (HUNTINGTON et al., 2007).

Devido ao crescimento do feto e à condição corporal da égua na fase final da gestação é necessário que se tenha uma atenção maior a alimentação da égua, sabendo-se que o feto ocupa grande espaço dentro da cavidade abdominal limitando a capacidade de ingestão do alimento (ALEIXO, 2015). Durante a gestação, a energia será utilizada para manutenção da mãe, deposição de tecido fetal e placentário, hipertrofia do útero, desenvolvimento mamário e manutenção do feto (NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2007).

Estudos sobre a incidência de osteocondrite dissecante (OCD) mostraram que o distúrbio é muito dinâmico nos primeiros meses de vida e que a maior incidência registrada ocorre aos 5 meses de idade, muitos potros ainda não são desmamados nesta idade e dependem da nutrição do leite de égua, pastagem e concentrado (HUNTINGTON et al., 2007).

2.2.COLOSTRO

É importante que as éguas sejam levadas para o local que vão parir em torno de duas semanas, preferencialmente quatro semanas antes da data de previsão do parto, para que se aclimatem com o local e dê tempo para a produção desejável de anticorpos do local para posteriormente passar via colostro essa proteção para o potro (FRAPE, 2007; LEWIS, 2010).

O Colostro consiste na primeira secreção da glândula mamária, produzido á partir de imunoglobulinas circulantes no úbere durante as últimas semanas da gestação sob a influência do estrógeno e progesterona (GIGUÈRE; POLKES, 2005; LEWIS,

2010), sendo que imunoglobulina G representa em torno de 8% das proteínas totais do colostro, já a imunoglobulina A e outros tipos representam uma pequena quantidade, todas provenientes do sangue da égua (HOROHOV, 2000; FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010).

O colostro é um complexo de eletrólitos, carboidratos, gorduras e proteínas (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010). É composto, entre outros, por imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento, citocinas, e várias enzimas (por exemplo, lisozima) (GIGUÈRE; POLKES, 2005). Contém muitos componentes solúveis e celulares que provavelmente desempenham um papel na imunidade neonatal e na maturação intestinal (GIGUÈRE; POLKES, 2005).

Só é produzido uma vez a cada prenhez e é substituído pelo leite que contém imunoglobulinas em quantidades desprezíveis depois de 24 horas após o início da lactação (HOROHOV, 2000). A taxa média de produção de colostro de éguas múltiparas é de 300ml/hora (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010).

O colostro é geralmente amarelo viscoso, com uma consistência espessa e pegajosa. No entanto, a avaliação visual não é adequada. Colostro de má qualidade, ou seja, com menos de 3.000 mg / dl, avaliado diretamente pela determinação do conteúdo de Ig ou medindo a gravidade específica do colostro, sugere a necessidade de suplementação de colostro de boa qualidade ou transfusão de plasma (BERNARD; BARR, 2012).

Ele regula a imunidade mediada por células, ativa os granulócitos, promove absorção intestinal de macromoléculas, diminui a colonização intestinal pelos patógenos e contém constituintes da imunidade inata como o complemento, que vai apresentar papel protetor local no trato digestório do neonato (HOROHOV, 2000).

Ao nascer os potros se deparam com organismos patogênicos e oportunistas e o colostro é a melhor forma de previr contra infecções no período neonatal através da transferência de anticorpos maternos (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010; LIEPMAN et al., 2015).

A absorção das moléculas de imunoglobulinas ocorre através de células especializadas da mucosa intestinal delgado (pinocitose), o processo de pinocitose não é seletivo. Macromoléculas, como imunoglobulinas, são englobadas e

transferidas para a circulação geral através dos vasos linfáticos. (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010; BERNARD; BARR, 2012; LIEPMAN et al., 2015). Nos equinos a absorção de imunoglobulinas é seletiva, a IgG e IgM são absorvidas preferencialmente, enquanto a IgA fica se mantém no intestino (TIZARD, 2009).

O consumo de colostro do potro pode ser prejudicado pela capacidade de se levantar e mamar o mais rápido possível após o nascimento, isso pode ser observado em potros fracos com anormalidades musculoesqueléticas e em potros com síndrome do mau ajustamento. A absorção intestinal do colostro pode ser prejudicada pela prematuridade, reduzindo a absorção de macromoléculas por uma mucosa intestinal subdesenvolvida (GIGUÈRE; POLKES, 2005; FRANCO AYALA; OLIVER-ESPINOSA, 2016).

O pico de absorção das imunoglobulinas ocorre com cerca de 8 horas pós-parto e a absorção é praticamente nula entre 12-24 horas após o parto, as células especializadas da pinocitose são substituídas por células mais maduras e essas células mais maduras não são capazes de absorverem grandes moléculas como as imunoglobulinas (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010; BERNARD; BARR, 2012; FRANCESCA et al., 2017). A alimentação adequada feita com o colostro tende a acelerar essa troca, diminuindo a absorção, enquanto que o atraso no consumo do colostro pode prorrogar esse tempo de absorção para até 33 horas (TIZARD, 2009).

Com exceção de sua função nutricional, o colostro é uma fonte de imunoglobulina e estimula a atividade do trato gastrointestinal e a excreção de mecônio em potros (WŁODARCZYK-SZYDŁOWSKA; NOWACKI; WIERZBICKI, 2005). Os potros devem ingerir pelo menos um litro de colostro dentro de 6 horas após o nascimento (TIZARD, 2009).

As imunoglobulinas são anticorpos e moléculas glicoproteínas. Os níveis de IgG no colostro varia de individuo para individuo, 28% das éguas produzem colostro de má qualidade (TIZARD, 2009).

A IgG é a imunoglobulina predominante no colostro da maioria dos animais domésticos, correspondendo de 65% a 90% do conteúdo de anticorpos colostrais, a IgA e outras correspondem com uma menor significância, á medida que a lactação progride e o colostro muda para leite, nos equinos a IgG que é predominante no

colostro diminui drasticamente e a IgA vai aumentando progressivamente durante toda a lactação (figura 1) (TIZARD, 2009; FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010; BERNARD; BARR, 2012).

Figura 1 Concentrações relativas das principais classes de imunoglobulinas no, colostro e leite dos ruminantes e não-ruminantes

Fonte: Tizard, (2009)

As imunoglobulinas são transferidas do sangue da égua para as secreções mamárias através de receptores Fcγ seletivos na superfície das células epiteliais. Não há correlação entre as concentrações séricas e de imunoglobulinas no colostro em éguas, sugerindo que a produção local de imunoglobulinas dentro da glândula mamária também pode ocorrer (GIGUÈRE; POLKES, 2005).

2.2.1. Perfil celular do colostro

Embora o papel protetor da imunoglobulina colostrar tenha sido bem estudado, nossa compreensão dos mecanismos subjacentes à proteção por leucócitos colostrais maternos mostra-se muito mais desafiadora, sendo que em equinos apenas as imunoglobulinas foram estudadas de forma abrangente (GIGUÈRE; POLKES, 2005; REBER et al., 2008).

Componentes celulares incluem linfócitos, macrófagos, neutrófilos e células epiteliais, esses componentes podem por um mecanismo ainda não descrito penetrar na barreira intestinal e “colonizar” o sangue periférico e os tecidos linfáticos e não linfáticos, incluindo os linfonodos mesentéricos, o baço, o fígado e os pulmões. (GIGUÈRE; POLKES, 2005; NECHVATALOVA et al., 2011).

Quando ativados, os leucócitos originários de tecidos linfoides associados a mucosas migram para tecidos linfoides e não linfoides. Como em animais que estão próximos ao parto, essas células também migram para a glândula mamária (REBER et al., 2008; BANDRICK et al., 2014).

A capacidade de tráfego de leucócitos colostrais para o sangue periférico do recém-nascido foi demonstrada em várias espécies, incluindo bovinos, suínos, babuínos e ovinos. No entanto, ao entrar no neonato, o papel dos leucócitos colostrais maternos transferidos na proteção do neonato permanecem impreciso (REBER et al., 2008).

A captação de linfócitos maternos para a circulação do recém-nascido pode resultar na transferência de imunidade antígeno-específica para o neonato; os resultados de estudos mais recentes sugerem que essas células podem fornecer atividade específica antígeno transitória imediata (REBER et al., 2008).

No entanto, essas células também parecem desempenhar um papel importante no desenvolvimento do sistema imunológico neonatal. Estudos anteriores demonstraram que os leucócitos colostrais maternos transferidos influenciam as respostas imunes neonatais, conforme indicado por sua capacidade de modular as respostas neonatais a leucócitos estranhos em respostas leucocitárias mistas (REBER et al., 2008).

Quimiotaxia e fagocitose por neutrófilos de potro são baixas ao nascer e aumentam significativamente após a ingestão de colostro (GIGUÈRE; POLKES, 2005).

Avaliando a atividade natural killer colostrar e a proliferação antígeno-específica Bandrick et al. (2014) encontraram que as células colostrais são capazes de influenciar a resposta imune inata e específica de leitões neonatos.

Em uma pesquisa realizada com leitões encontraram que os anticorpos derivados do colostro podem atravessar a mucosa do trato respiratório. Além disso, descobriram que linfócitos específicos para antígenos eram detectáveis em linfonodos mesentéricos e sangue periférico, mas muito raramente em baço e linfonodos traqueobrônquicos (NECHVATALOVA et al., 2011).

Em um estudo avaliando o perfil celular do colostro de 12 éguas Petrelli et al. (2014) encontraram o macrófago como a célula predominante na maioria das amostras estudadas, seguido por linfócitos e neutrófilos. Acreditam que devido a não contaminação ascendente após a mamada pode ter determinado uma menor concentração de neutrófilos nas amostras de colostro coletadas imediatamente após o parto.

O colostro equino contém principalmente linfócitos CD4 + e CD8 + com algumas células B. As células T CD8 + citotóxicas foram significativamente enriquecidas no colostro em comparação com PBMC de égua. As células T colostrais estimuladas in vitro produziram principalmente interferon (IFN) - γ e IL-17 e apenas baixas quantidades de IL-4 e IL-10 (PERKINS; WAGNER, 2015).

2.2.2. Fator transformador do crescimento – TGF- β

Os TGF- β são uma família de cinco glicoproteínas, das quais três são encontrada em mamíferos, TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, elas são secretadas de maneira inativas ou latentes e subsequentemente são ativadas. São produzidas por plaquetas, macrófagos ativados, neutrófilos e linfócitos B e T. Agem sobre a maioria da população celular, incluindo os linfócitos B e T, as células dendríticas, os macrófagos, os neutrófilos e os fibroblastos (TIZARD, 2009).

O TGF- β é considerado um fator imunorregulador importante na promoção da produção de IgA. Durante o período neonatal, quando a produção endógena de TGF- β no intestino é pequena, o leite materno é uma importante fonte exógena. Um estudo recente mostrou que a concentração de TGF- β no colostro materno se correlaciona com a capacidade do bebê de produzir anticorpos IgA específicos contra antígenos alimentares e prevenção de doença atópica durante o aleitamento materno exclusivo e também está correlacionado com a maturação do sistema imune intestinal neonatal (RAUTAVA; KALLIOMÄKI; ISOLAURI, 2002; DOARE et al., 2017).

Embora as várias vias mecânicas pelas quais o TGF- β modula o desenvolvimento e a manutenção do sistema imunológico, seu papel regulador da tolerância e imunidade não tenha sido previamente reconhecido, o TGF- β parece desempenhar um papel imuno-regulatório importante em alvos na autoimunidade, imunodeficiências e outras patologias imunomediadas (ODDY; ROSALES, 2010).

A administração oral de TGF- β in vivo em estudos com animais mostrou resultar em atividade biológica suficiente para promover a tolerância oral. Assim, este papel sugere que em um bebê propenso a ter alergia ao leite de vaca, ingerindo TGF- β do leite materno teria uma menor intolerância (ANDO et al., 2007; ODDY; ROSALES, 2010).

Um aumento no conteúdo de TGF- β do leite materno pode ser benéfico promovendo a produção de anticorpos IgG e IgA e inibindo as reações mediadas por células e IgE do leite (ODDY; ROSALES, 2010).

Examinaram o papel do TGF- β transmitido pelo leite, expondo camundongos lactantes a um alérgeno transmitido pelo ar e avaliando o desenvolvimento de asma na progênie. Eles descobriram que a tolerância induzida pela amamentação depende da presença de TGF- β durante a lactação. Esse efeito foi mediado por linfócitos T CD4 + e dependeu da sinalização de TGF- β em células T, e eles concluíram que a transferência de antígeno e TGF- β mediada pelo leite materno para o recém-nascido resultou em indução de tolerância oral e proteção antígeno-específica contra doença alérgica das vias aéreas (VERHASSELT et al., 2008).

2.2.3. Composição

O leite de éguas é caracterizado por uma composição química única em comparação com o leite de outras espécies de animais de criação. É composto de aproximadamente 1% de gordura, 2% de proteína e 7% de lactose, e é uma fonte de componentes bioativos como lisozima, lactoferrina, imunoglobulina, ácidos graxos de cadeia longa - 3 e vitaminas lipossolúveis (MARKIEWICZ-KESZYCKA et al., 2015). Além disso, possui em sua composição minerais como cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cobre e zinco (BERNARDINELLI, 2014).

Os resultados de um estudo anterior demonstram a influência da qualidade do colostro e do leite das éguas no desenvolvimento adequado e no estado de saúde dos potros (PECKA et al., 2012).

A produção e composição do colostro e do leite de égua pode ser influenciada por vários fatores: fase de lactação, raça, idade do animal, estado de saúde, condições zootécnicas e ambientais, bem como alimentação (CSAPÓ et al., 1995; SANTOS et al., 2005).

O pico de lactação em uma égua é observado entre o 21º e o 28º dia, permanecendo em um nível estável até o 56º dia de lactação. Após cerca de 8 semanas de vida, o potro consome quantidades maiores de forragem que não o leite e, portanto, a quantidade de leite que consome resulta em menor produção de leite pela égua (SANTOS; SILVESTRE, 2008).

Os principais componentes do leite são: água, proteína, gordura e lactose. As concentrações de proteína, gordura e lactose são utilizadas para determinar a sua composição, juntamente com o Extrato Seco Total (EST), que representa todos os componentes sólidos e traduz a concentração real dos componentes do leite, eliminando a influência do teor de água (REIS et al., 2007).

A proteína predominante no leite das éguas é a albumina assim como no leite humano, sendo também constituído por caseínas e proteínas do soro. Outras proteínas como mucoproteína, lipoproteína e algumas ferroproteínas como a lactoferrina e a transferrina também fazem parte da composição do leite, mas em menor quantidade (POTOČNIK; GANTNER, 2011).

Os níveis de gordura do leite de éguas é menor quando comparado com o leite de ruminantes e humanos, sendo o componente que sofre maiores variações, diminuindo os seus teores ao longo de toda a lactação (POTOČNIK; GANTNER, 2011; BERNARDINELLI, 2014).

Os açúcares do leite equino são constituídos essencialmente pela lactose e, em menores quantidades, outros sacarídeos. A elevada concentração de lactose no leite equino aumenta a sua palatabilidade e estimula a absorção intestinal de cálcio, o que é um fator favorável à calcificação dos ossos durante os primeiros meses de vida do potro (REIS et al., 2007).

2.3. IMUNIDADE PASSIVA

A placenta da égua é epiteliocorial (microcotiledonária) difusa funciona como uma barreira para a transmissão de patógenos para o feto durante a gestação. Esta barreira, conhecida como barreira materno-fetal, permite apenas a passagem de moléculas pequenas, como os aminoácidos e eletrólitos. As imunoglobulinas não passam devido ao alto peso molecular (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010).

Os potros nascem com concentrações desprezíveis de imunoglobulinas séricas devido à estrutura epiteliocorial da placenta equina (GIGUÈRE; POLKES, 2005; ELSOHABY; RILEY; MCCLURE, 2018). A concentração sérica de IgG do potro é totalmente correlacionada com a concentração de IgG do colostro fornecido (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010)

O potro ao nascimento é agamaglobulinêmico. Os que são privados de colostro não têm Ig detectável ao nascimento ou até os vários dias de idade. O potro possui um sistema imune celular imaturo, mas funcional e não possui Ig autógena ao nascimento, essas só serão detectáveis no soro de forma significativa por volta de 2 meses, portanto sua defesa imunológica ao nascimento contra patógenos é limitada até que ocorra a transferência de imunidade (BERNARD; BARR, 2012; FRANCO AYALA; OLIVER-ESPINOSA, 2016).

A vacinação de éguas contra vários patógenos, incluindo, a, influenza, tétano e rotavírus, aumenta a transferência de IgG antígeno-específico para potros através

do colostro. Para doenças que podem ser prevenidas por anticorpos neutralizantes preexistentes, como o tétano, concentrações suficientes de anticorpos maternos são totalmente protetoras para o potro recém-nascido. Para patógenos intracelulares, como o *Rhodococcus equi*, os anticorpos neutralizantes também têm efeitos protetores, mas por si só não são totalmente protetores (PERKINS; WAGNER, 2015).

As concentrações séricas de IgG em potros recém-nascidos devem refletir a quantidade e a qualidade do colostro ingerido após 18 horas de nascido. Gamaglobulinas produzidas autogeneamente não atingem níveis adultos até os 4 meses de idade (LIEPMAN et al., 2015).

A imunidade humoral inicial é fornecida por Igs adquiridas passivamente por meio da ingestão de colostro nas primeiras 24 horas de vida (JEFFCOTT, 1974a; GIGUÈRE; POLKES, 2005; FRANCO AYALA; OLIVER-ESPINOSA, 2016).

As taxas de sobrevivência entre os neonatos foram relacionadas às concentrações de IgG, com valores de corte desenvolvidos que delinearam a transferência adequada de imunidade passiva (ATPI) versus FTPI parcial e completa (LIEPMAN et al., 2015).

Concentrações preventivas de imunoglobulina autógena não são alcançadas antes dos 2 meses. Até a imunidade humoral é proporcionada pela imunidade passiva derivada das imunoglobulinas colostrais ingeridas e absorvidas nas primeiras 24 horas de vida (METZGER et al., 2006).

Os níveis de anticorpos alcançados via colostro caem rapidamente nas 4 primeiras semanas de vida, permanecendo menos da metade do seu valor original e por volta de 6 meses de vida esse valor praticamente desaparece (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010).

O tempo da proteção vinda da imunidade passiva vai depender de alguns fatores como a deficiência de absorção e o peso da IgG transferida pelo colostro, o que depende da qualidade e quantidade de colostro (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010). O potro recém-nascido é totalmente capaz de reproduzir uma resposta imune normal, porém ele não teve nenhuma exposição a antígenos, e isso não permite

acúmulo de imunoglobulinas e outras formas de imunidade adaptativa (HOROHOV, 2000).

Se o potro amamenta pela primeira vez dentro de 2 horas após o nascimento, a concentração sérica de IgG mostra um pico entre 18 e 24 horas de vida, portanto Francesca et al. (2017) afirma que a avaliação da transferência passiva de imunidade não deve ser realizada antes deste momento. A concentração sérica de IgG 800 mg / dL é considerada adequada, mas muitos potros normais apresentam concentrações muito mais altas (METZGER et al., 2006).

2.4. FALHA DE TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA

A falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) é o distúrbio de imunodeficiência mais comum nos equinos, estando significativamente correlacionada com a suscetibilidade aumentada a doenças infecciosas e morte de potros neonatais (HOROHOV, 2000).

Várias podem ser as causas da FTIP, sendo elas, falha do potro em ingerir um volume adequado de colostro; perda de colostro por lactação precoce; quantidade inadequada de imunoglobulinas no colostro; absorção deficiente de imunoglobulinas pelo intestino (HOROHOV, 2000; GIGUÈRE; POLKES, 2005; FRANCESCA et al., 2017).

Os potros que não ingerem ou absorvem quantidades suficientes de IgG colostrar durante as primeiras 24 horas após o nascimento sofrem de falha na transferência de imunidade passiva (FTPI) que pode ser diagnosticada pela dosagem séria de IgG (FRANCESCA et al., 2017; ELSOHABY; RILEY; MCCLURE, 2018).

Na década de 80 ficou definido que os valores para falha de transferência de imunidade passiva completa seria $<4 \text{ g / l}$, $4-8 \text{ g / l}$ como FTPI parcial e $> 8 \text{ g / l}$ sendo considerado uma boa transferência de imunidade passiva. (KOTERBA; BREWER; TARPLEE, 1984; LIEPMAN et al., 2015).

A incidência de falha de transferência de imunidade parcial em potros varia entre 2,9% e 25% e de 18,6% para falha de transferência de imunidade passiva total em potros (GIGUÈRE; POLKES, 2005; FRANCO AYALA; OLIVER-ESPINOSA, 2016).

Em pesquisa, Koterba; Brewer; Tarplee (1984) apresentaram que 87% dos neonatos sépticos tinham concentrações de IgG $< 8 \text{ g / l}$ e sugeriram que os neonatos "pareciam se sair muito melhor quando suas concentrações de IgG eram normais ($> 8 \text{ g / l}$)".

Potros com falha de transferência de imunidade passiva estão em maior risco de infecções e morte. As concentrações séricas de IgG de 400-800 mg / dl podem ser adequadas para potros saudáveis e de baixo risco em fazendas bem administradas, mas são consideradas inadequadas para potros comprometidos ou doentes, como aqueles que compõem a maioria das populações hospitalizadas (METZGER et al., 2006).

Existe uma associação entre FTPI especialmente entre 400mg/dL e um risco aumentado de doenças infecciosas, como septicemia, infecções do trato respiratório ou infecções do trato gastrointestinal em potros neonatais (FRANCESCA et al., 2017; TSCHESCHLOK; VENNER; HOWARD, 2017; ELSOHABY; RILEY; MCCLURE, 2018).

Medição de IgG ainda parece ser o teste mais confiável de imunocompetência de potro e o tradicional corte de IgG $> 8 \text{ g / l}$ permanece adequado (LIEPMAN et al., 2015).

2.5. SISTEMA IMUNE DO POTRO

A capacidade do potro para prevenir a infecção pela maioria dos patógenos é o resultado de um sofisticado conjunto de mecanismos de defesa. Esses mecanismos de defesa podem ser divididos em imunidade adaptativa e inata (GIGUÈRE; POLKES, 2005).

A imunidade inata abrange mecanismos de defesa que são preexistentes ou são rapidamente induzidos em horas de exposição a um patógeno. Inversamente, a imunidade adaptativa ou adquirida representa as defesas do hospedeiro mediadas por linfócitos T e B, cada um expressando um receptor de antígeno altamente específico e exibindo memória durante um segundo encontro com um dado antígeno (GIGUÈRE; POLKES, 2005).

Os distúrbios imunológicos são relativamente comuns em potros comparados com sua ocorrência em equinos adultos (WAGNER, 2006).

Estudos recentes comparando a composição isotípica em soros de potros indicaram um atraso distinto na produção endógena de alguns isotipos durante o primeiro ano de vida. O sistema imunológico do potro começa a produção de IgM e IgG1 durante o desenvolvimento intra-uterino (WAGNER, 2006).

Inicialmente, os constituintes Ig do soro do potro pós-sucção do colostro são semelhantes os do colostro da égua. Então, a concentração total de imunoglobulina sérica do potro declina à medida que as IgGs transferidas pela mãe são utilizadas e se degradam com a meia-vida para IgG1, IgG4/7 e IgG3/5 de 18, 32 e 21 dias, respectivamente. Uma vez que a concentração total de imunoglobulina no soro do potro atinge níveis baixos, o aumento subsequente dos isotipos de IgG é endógeno (SHEORAN et al., 2000; PERKINS; WAGNER, 2015).

O potro nasce com concentrações séricas de IgM e IgG endógenos abaixo dos níveis protetores (aproximadamente <30 e <10 mg / dL, respectivamente) e as imunoglobulinas maternas devem ser passivamente adquiridas pela ingestão de colostro para defesa imediata após o nascimento (TALLMADGE et al., 2009, 2017).

Após o nascimento e o desaparecimento dos anticorpos maternos do colostro, detectou-se a síntese endógena de IgG1, IgG3 / 5 e IgA nas primeiras cinco a oito semanas de vida. Em contraste, a produção endógena de IgG4 foi atrasada. (WAGNER, 2006).

Os potros manifestaram produção de quantidades consideráveis de IgM e IgG séricos endógenos em 2-3 meses de idade, independentemente da ingestão de colostro (FLAMINIO et al., 2000; TALLMADGE et al., 2017).

2.6. PROBIÓTICO

Em 2008, a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (OMS) fez a definição de probióticos: "microorganismos vivos que, quando administrados por via oral em concentrações adequadas, proporcionam um efeito benéfico para além do seu valor nutricional", sendo essa a definição usada até o momento (FAO et al., 2002; SCHOSTER; WEESE; GUARDABASSI, 2014).

Os probióticos estão ganhando cada vez mais interesse como alternativas para antibióticos ou drogas anti-inflamatórias, devido a poucos efeitos colaterais relatados, baixo custo e facilidade de administração (OELSCHLAEGGER, 2010; SCHOSTER et al., 2016).

Nem todas as bactérias do ácido láctico possuem propriedades probióticas. Além disso, tem sido sugerido que os organismos probióticos devem ser específicos da espécie hospedeira. Isso se baseia na premissa de que as cepas normalmente encontradas nas espécies-alvo teriam uma chance maior de sobreviver ao trânsito gastrointestinal e colonizar o trato intestinal. Os organismos probióticos também não devem ter efeitos adversos, mesmo quando administrados em doses muito altas (WEESE et al., 2004).

Os animais de produção são expostos ao stress relacionado com o ambiente (por exemplo, métodos de criação, dieta, etc.). Vários fatores podem causar distúrbios no equilíbrio do ecossistema intestinal e podem se tornar fatores de risco para infecções patogênicas. Independentemente das espécies, a saúde animal é crucial para a cadeia de produção. A administração de cepas probióticas, tanto individuais quanto combinadas, pode ter um efeito significativo na absorção e utilização de ração, aumento diário do peso corporal e peso corporal total de vários animais, incluindo perus, galinhas, leitões, ovelhas, cabras, gado e cavalos (MARKOWIAK; ŚLIZEWSKA, 2018).

Com base no papel conhecido da microbiota nas doenças, a modificação terapêutica ou restauração da microbiota gastrointestinal com antimicrobianos, probióticos, prebióticos e transfaunação fecal tem sido sugerida para tratar e prevenir doenças gastrointestinais (SCHOSTER et al., 2016).

Os organismos probióticos devem ser capazes de sobreviver a ambientes dominados por ácidos, como seria encontrado durante a passagem pelo estômago e intestino delgado. A capacidade de sobreviver ao trânsito intestinal é igualmente importante, e a capacidade de colonizar o trato intestinal por um curto período também é desejável. A aerotolerância é outra propriedade importante, para assegurar que os organismos selecionados possam sobreviver ao processamento e ao armazenamento. A produção de fatores antimicrobianos contra um ou mais patógenos intestinais pode ser avaliada e pode ser crítica para a prevenção ou tratamento de certas doenças (WEESE et al., 2004).

O sistema imunológico geral e intestinal local, incluindo respostas inatas e adaptativas são influenciadas pelos probióticos (OELSCHLAEGGER, 2010).

Os probióticos são reconhecidos pelas células hospedeiras sensíveis. As principais células-alvo nesse contexto são as células imunes epiteliais associadas ao intestino. A interação de probióticos com células hospedeiras (epiteliais) por adesão em si já pode desencadear uma cascata de sinalização levando à modulação imune (OELSCHLAEGGER, 2010).

Os receptores de reconhecimento das células epiteliais intestinais e as células imunes associadas ao intestino reconhecem os probióticos e seus metabólitos, após processá-los, iniciam uma cascata de sinalização (SCHOSTER; WEESE; GUARDABASSI, 2014).

O trato intestinal representa a maior superfície mucosa, e 75% de todos os isotipos de imunoglobulina (Ig) no organismo são IgA, que é o isotipo predominante de imunoglobulinas da mucosa e é poderosamente induzido pelos micróbios comensais no intestino (STRÖBEL et al., 2018).

Os mecanismos propostos para o efeito dos probióticos incluem a modulação do sistema imune do hospedeiro, produção de substâncias antimicrobianas, inibição ou inativação de toxinas bacterianas, deslocamento de microorganismos patogênicos (exclusão competitiva), melhoria na absorção de micronutrientes e melhoria na função de barreira epitelial (figura 2) (SCHOSTER; WEESE; GUARDABASSI, 2014).

Figura 2 Mecanismo de ação dos probióticos. Verde, probiótico; roxo, patógeno

Fonte: Schoster; Weese; Guardabassi. (2014)

Os efeitos dos probióticos podem ser classificados em três modos de ação; podem modular as defesas do hospedeiro, incluindo o sistema imune inato e adquirido. Sendo esse provavelmente o mais importante para a prevenção e terapia de doenças infecciosas e também para o tratamento de inflamações do trato digestivo; também podem ter um efeito direto sobre outros microrganismos, comensais e / ou patogênicos. Este princípio é importante para a prevenção e terapia de infecções e restauração do equilíbrio microbiano no intestino e finalmente, os efeitos probióticos podem basear-se em ações que afetam produtos microbianos como toxinas e sais biliares. Tais ações podem resultar na inativação de toxinas e na desintoxicação dos componentes do hospedeiro e do alimento no intestino. (OELSCHLAEGGER, 2010).

As cepas probióticas aderem às células epiteliais, bloqueiam os receptores e aumentam a produção de mucina. Subsequentemente, os patógenos não podem mais aderir ou ganhar acesso às células epiteliais. Além disso, as cepas probióticas ocupam nichos ecológicos e competem por nutrientes, tornando mais difícil para as bactérias patogênicas sobreviverem no lúmen gastrintestinal (GRZES, 2007).

Promovem a fortificação da barreira intestinal pela manutenção de junções apertadas, apoio à sobrevivência das células epiteliais intestinais e seu crescimento, e indução da produção de IgA e b-defensina, resultando na supressão do crescimento de patógenos, bem como efeitos inflamatórios local sistêmico (SCHOSTER; WEESE; GUARDABASSI, 2014).

Os efeitos mais significativos dos probióticos foram relatados quando foram incluídos na dieta de animais durante períodos particularmente estressantes para a microbiota intestinal e para o animal: ao desmame; no início do período de lactação; e depois de uma mudança na dieta de forragem alta para carboidratos facilmente fermentáveis (DURAND; DURAND, 2010).

Em equinos foi observada uma melhora na resposta ao uso de leveduras como em caso de estresse (por exemplo, transporte) ou com o uso de uma dieta com alto nível de concentrado (figura 2) (DURAND; DURAND, 2010).

As principais recomendações do uso de probióticos para equinos segundo Durand; Durand, (2010) são para aumentar a digestibilidade da dieta de éguas gestantes, melhorar a quantidade e qualidade do leite, promover o crescimento de potros e diminuir a incidências de diarreias em potros.

Os produtos probióticos podem conter uma ou mais linhagens microbianas selecionadas. Também alguns fungos e leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces* são probióticos. Os microrganismos acima mencionados são potencialmente seguros para o hospedeiro (MARKOWIAK; ŚLIZEWSKA, 2018).

Os probióticos, ingredientes alimentares vivos benéficos para a saúde, mostraram controlar a inflamação alérgica e aliviar os sintomas associados ao eczema atópico e à alergia alimentar, em parte pelo mérito da produção aumentada de TGF- β (RAUTAVA; KALLIOMÄKI; ISOLAURI, 2002).

2.6.1. Leveduras

As leveduras são organismos pertencentes ao grupo dos fungos, as quais se apresentam predominantemente sob a forma unicelular, diferenciando-se dos fungos verdadeiros (ou mofos) que são organismos geralmente multicelulares. Elas

exercem papel similar ao das bactérias, sendo tipicamente consumidores de matéria orgânica (SANTIN, 1996).

A levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, tem um ótimo crescimento na temperatura de 37 ° C e sobrevive a passagem por todos os níveis do trato gastrointestinal de humanos. Foi usada por muito tempo na França para o tratamento de diarreia no início do século 50. Sua eficácia é atribuída a um efeito inibitório direto sobre o crescimento de cepas patogênicas, e um efeito trófico sobre enterócitos com estimulação da atividade enzimática e mecanismos não específicos e ações anti-inflamatórias (BILLOO et al., 2006; SHARIF et al., 2016).

A maioria dos isolados de levedura do trato gastrointestinal em humanos são de *Candida albicans*, Embora a levedura seja responsável apenas pela minoria dos organismos que compõem a microbiota, seu tamanho celular é 10 vezes maior que o das bactérias (CZERUCKA; PICHE; RAMPAL, 2007).

A inclusão de leveduras na dieta de ruminantes e não-ruminantes melhora o desempenho, a estabilidade microbiana do intestino e o equilíbrio do pH. Uma das funções da levedura é a regulação do pH do intestino (CIPRIANO-SALAZAR et al., 2019).

Os microorganismos probióticos potenciais, tais como *L. rhamnosus* strain GG, *Escherichia coli* Nissle 1917 e cepas distintas de *Saccharomyces cerevisiae*, estão nas fezes de potros e cavalos adultos, por mais de 1 semana após a última aplicação oral, indicando colonização transitória sem efeitos adversos para a saúde (STRÖBEL et al., 2018).

A suplementação com culturas de levedura tem sido usada em equinos para estimular a flora microbiana do intestino grosso e aumentar a digestibilidade de nutrientes, como fibras, proteína bruta, minerais, cálcio e fósforo e matéria seca. Melhor digestibilidade e absorção do equilíbrio de nutrientes são de grande importância no desenvolvimento de potros (MARIO et al., 2013).

A inclusão de levedura na dieta de eqüinos aumenta o pH intestinal e aumenta o crescimento de bactérias do ácido láctico. Portanto, a inclusão de levedura aumenta a produção de ácido graxo de cadeia curta a partir de dietas fibrosas, fornecendo

energia adequada e como substituto para a inclusão de grãos de cereais (CIPRIANO-SALAZAR et al., 2019).

A adição de levedura (por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae*) à dieta do equino mostrou melhorar a utilização de alimentos e o valor nutritivo com efeito positivo sobre a população microbiana do intestino grosso (ELGHANDOUR et al., 2016)

Suplementação de levedura a equinos melhora a digestão de forragens de baixa qualidade e é benéfica para a saúde do cavalo (MORGAN et al., 2007; ELGHANDOUR et al., 2016)

Leveduras vivas demonstraram provocar um aumento na digestibilidade da fibra no cólon e modular o equilíbrio das comunidades bacterianas do intestino grosso, levando a uma diminuição do risco de acidose láctica (DURAND; DURAND, 2010).

Em pesquisa realizada por kiros et al. (2018) compararam o desempenho e a microbiota do intestino delgado de leitões desmamados submetidos a diferentes regimes de suplementação de levedura pré e pós-desmame utilizando uma cepa viva de *Saccharomyces cerevisiae* (Actisaf Sc 47) afirmam que o consumo médio de ração e o ganho de peso médio diário dos leitões dentro dos grupos controle de levedura foram maiores do que os do grupo controle. A suplementação de levedura resultou no desenvolvimento de comunidades microbianas filogeneticamente mais homogêneas e menos dispersas em comparação com a microbiota de leitões controles obtiveram maiores correlações positivas entre os gêneros potencialmente benéficos dos filos Actinobacteria e Firmicutes, sugerindo um mecanismo pelo qual a suplementação de levedura pode contribuir para a regulação da homeostase intestinal e melhor desempenho dos leitões.

Ao analisarem a influência da levedura na alimentação equina, Taran et al. (2016), avaliando a adição de quantidades crescentes de leveduras vivas de *Saccharomyces Cerevisiae* na dieta de equinos (0, 10, 20 e 30 g / animal / dia) não detectaram efeito do sobre a digestibilidade aparente de nutrientes em dietas com relação volumoso: concentrado (70:30). No entanto, nas dietas com baixa razão volumoso: concentrado (30:70), a digestibilidade aparente da matéria orgânica, proteína bruta, fibra detergente neutra e fibra detergente ácida apresentou efeito quadrático com doses crescentes, sugerindo que a levedura interfere na digestão de

dietas de alto teor de concentrado, devido à maior disponibilidade dos componentes para a digestão microbiana.

A suplementação com *Saccharomyces Cerevisiae* na dieta de equinos diminuiu o acúmulo de lactato. Essas alterações levaram a um aumento da atividade das populações bacterianas celulolíticas do intestino grosso no equino. As mudanças positivas no ambiente intestinal podem diminuir a suscetibilidade à cólica ou à laminite (AGAZZI et al., 2011).

3. HIPÓTESE

A adição de leveduras vivas *Saccharomyces cerevisiae* no terço final da gestação de éguas, melhora a qualidade do colostro, o que possibilita a melhora da transferência imunidade passiva no neonato e desenvolvimento imune do potro.

4. OBJETIVOS

4.1. GERAL

Objetivou-se avaliar a suplementação com levedura viva, *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de éguas no terço final da gestação sobre a qualidade do colostro e a transferência de imunidade passiva.

4.2. ESPECÍFICOS

- Avaliação da composição do colostro;
- Avaliação da concentração de IgG colostral;
- Avaliação do perfil celular do colostro;
- Avaliação sérica do IgG das éguas;
- Avaliação sérica do IgG dos potros.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. LOCAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Saúde Digestiva e Desempenho de Equinos (LabEqui) e nas dependências do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), os animais permaneceram em piquetes pertencentes à Prefeitura do Campus Fernando Costa, Universidade de São Paulo (USP), na cidade de Pirassununga/SP. As coordenadas geográficas são 21°95'2022S 47°45'2892W.

5.2. ANIMAIS

Foram utilizadas dezesseis éguas prenhes, sem raça definida, nulíparas primíparas e múltíparas, com idade média de 90 ± 7 meses e peso médio inicial de 521 ± 56 kg. Os animais receberam vacinas contra rinopneumonite equina (Herpes Horse, Laboratórios Vencofarma do Brasil, Londrina, PR, BR) no quinto e sétimo mês de gestação e contra rinopneumonite, tétano, encefalomielite e influenza equina (Lexington, Laboratórios Vencofarma do Brasil, Londrina, PR, BR) no nono mês de gestação.

Para atestar a higidez, todos os animais foram monitorados diariamente, durante todo o período experimental, avaliando-se alguns parâmetros como: atitude, apetite, escore de condição corporal, quando houveram alterações, o exame clínico completo foi realizado. No mesmo sentido, foram realizados hemogramas no equipamento hematológico marca mindray, modelo bc2800vet com software veterinário, dos potros nos tempos: imediatamente após o parto, com 12 horas, 24 horas, 15 dias e 45 dias de vida e das éguas: no início da fase experimental.

Para garantia da adequada transferência de imunidade passiva e não interferência na fase experimental posterior, foi realizado a avaliação de transferência de imunidade passiva em todos os potros com teste comercial IgG

Check da Venco® feito em 12 horas após o parto. O teste foi realizado de acordo com o protocolo do fabricante.

Os partos ocorreram entre outubro de 2017 á janeiro de 2018.

5.3. RELAÇÃO NEUTRÓFILO/LINFÓCITO

Segundo Jeffcott; Rosedale; Leadon, (1982) uma baixa relação entre neutrófilo/linfócito ($< 2,5$) ao nascimento pode indicar prematuridade, pior resposta imunológica. A fim de avaliar tal parâmetro, foram realizadas as contagens diferenciais de leucócitos (neutrófilos e linfócitos) através de esfregaço sanguíneo, com o mesmo material coletado para hemograma nos momentos, imediatamente após o parto, 12 horas e 24 horas.

5.4. DIETAS

As éguas receberam uma dieta formulada com base NRC 2007 para atender as exigências nutricionais da categoria e também para adequação da dieta foram feitas avaliações do escore de condição corporal, seguindo a descrição de Henneke et al. (1983), que foi dividida em concentrado farelado (Tabela 1 e 2) e feno de gramínea *Cynodon* sp. cv. Tifton 85 (Tabela 2). Água e sal mineral foram fornecidos *ad libitum*. O concentrado foi fornecido em comedouros individuais tipo lanchonete (unidade de manejo alimentar) duas vezes ao dia, sempre nos mesmos horários, as 8:00 e as 16:00 horas e o feno foi distribuído em “manjedoras” nos piquetes.

A dieta dos potros em lactação foi complementada com concentrado comercial para potros lactentes – Max Equinos Creeper – Nutrane Nutrição Animal LTDA Pesqueira/PE (Tabela 3), fornecido 0,25% do peso corpóreo ao dia em cochos individuais a partir de 7 dias de vida.

Tabela 1 Formulação do concentrado fornecido para éguas em gestação e lactação

Insumo	Porcentagem (%)
Farelo de Trigo	50,00
Fubá de Milho	25,50
Farelo de Soja	13,00
Calcário	3,00
Óleo de Soja	3,50
Núcleo Equino	4,00
Sal Comum	1,00

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Tabela 2. Análises bromatológicas do concentrado e volumoso fornecido as éguas

Composição	Concentrado (%)	Volumoso (%)
Matéria Seca	91,91	92,32
Matéria Mineral	15,04	7,37
Fibra Detergente Neutro	11,77	74,59
Fibra Detergente Ácido	10,11	39,19
Extrato Etéreo	4,65	2,38
Proteína Bruta	15,92	12,41
Cálcio	3,50	0,42
Fósforo	1,04	0,25

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Tabela 3 Concentrado comercial Max Equinos Creeper, dados fornecidos pela empresa

Composição	g/kg
Umidade	130,00
Proteína bruta	200,00
FDA	90,00
Fósforo	4,5
Matéria fibrosa	60,00
Matéria Mineral	120,00
Extrato etéreo	70,00
Cálcio	14,00

Fonte: Bianconi, C. (2018)

5.5. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em dois grupos de oito animais cada, 1) grupo controle: sem suplementação, 2) grupo suplementado: suplementação de Actisaf HR Plus Sc 47® - 10 g/animal/dia, adicionado sobre o concentrado em comedouro individual no momento do arraçoamento sempre no mesmo horário, as 16 horas e teve início 3 meses antes da data prevista do parto.

Figura 3 Esquema do desenvolvimento experimental

Fonte: Bianconi, C. (2018)

5.6. IMUNIZAÇÃO DAS ÉGUAS COM KEYHOLE LIMPET HEMOCYANIN

Para avaliação da resposta imune específica, as éguas foram imunizadas com proteína de alto peso molecular (Keyhole limpet hemocyanin – KLH) extraída do molusco *Megathura crenulata* que tem sido largamente utilizada como imunógeno, incluindo em estudos em potros (STURGILL; HOROHOV, 2010). As éguas foram imunizadas pela via intramuscular com 60 e 30 dias antes da data prevista do parto com 1mg de KLH (Sigma Chemical Co, St Louis, MO) diluídos em 1 ml de água deionizada estéril (GUIRNALDA et al., 2001).

5.7. MONITORAMENTO DO PARTO

Conforme a proximidade do parto, a partir de 310 dias da data de cobertura, alguns parâmetros foram avaliados, como a diminuição do pH da secreção do úbere (de básico para ácido) (PEREIRA, 2017), aumento da glândula mamária, relaxamento dos ligamentos pélvicos e mudança de coloração da mucosa vaginal, para determinação do momento do parto. Quando os parâmetros citados anteriormente indicarem possível parto, as éguas foram separadas para os piquetes maternidade, de aproximadamente 2000 m².

Todos os partos foram acompanhados à distância, após o exame físico dos animais, as amostras de sangue e colostro foram coletadas de forma a causar o mínimo de estresse e/ou interferência na interação entre égua e potro.

5.8. AVALIAÇÃO DA GLÂNDULA MAMÁRIA

Para descartar a hipótese de mastite das éguas utilizadas, foram realizadas análises de caneca de fundo escuro, contagem de células somáticas, perfil microbiano do leite e avaliação da composição do leite.

O diagnóstico de mastite clínica seria firmado nas éguas que apresentassem alterações no leite como, a presença de grumos, pus, dessora ou estrias de sangue, no teste da caneca telada de fundo escuro, e sinais de inflamação sistêmica e/ou na

glândula mamária, dor, edema, hiperemia, hipertermia ou nódulos (Radostits *et al.*, 2007).

5.7.1 Caneca de Fundo Escuro

O teste de caneca de fundo escuro foi realizado através da retirada dos três primeiros jatos de colostro de cada teto logo após o parto, antes da primeira mamada em uma caneca de fundo escuro e realizado a observação de seu aspecto, se estivesse alterado, com a presença de grumos, pus, amarelo ou aquoso, seria considerado um sinal de mastite clínica (MOTTA *et al.*, 2011).

5.8.1. Análise microbiológica

As amostras de colostro foram coletadas imediatamente após o parto, antes do potro mamar, com 3 e 7 dias após o parto. Foram coletados de 5 a 10 ml de colostro sob a forma de *pool* das duas mamas de cada égua, após antissepsia dos tetos, utilizando solução de álcool-iodado 2%. Após desprezar os primeiros jatos de leite, as amostras foram colidas em tubos falcon de 15 ml estéreis e enviados ao laboratório para o cultivo microbiano, em até 24 horas, acondicionados em temperatura de refrigeração (4 a 8°C) (MOTTA, *et. al.*, 2011).

As amostras de colostro para análise microbiológica foram analisadas de acordo com as recomendações do NMC (2017). Foram inoculados com uma alça de platina 0,01 mL de leite previamente homogeneizado em placas contendo ágar sangue com 5% de sangue bovino. As placas seguiram incubadas à 37 °C por 48 horas, e posteriormente, feitas duas leituras a cada 24 horas quanto às características das colônias (número de colônias, coloração, tamanho e presença de hemólise). Amostras de leite com isolamento >3 tipos de microrganismos foram consideradas contaminadas (PARKER *et al.*, 2008).

Testes da catalase, hidróxido de potássio (KOH), e coloração de Gram foram realizados para identificação da morfologia dos isolados em cocos ou bastonetes (HARMON *et al.*, 1990). A prova da catalase foi realizada para diferenciação dos

cocos Gram-positivos em *Streptococcus* spp. (catalase-negativa) e *Staphylococcus* spp. (catalase-positiva).

Isolados identificados como cocos catalase-positivos, foram submetidos ao teste de coagulase. Se negativos na prova da coagulase o isolado foi considerado SCN. Por outro lado, foram confirmados como *Staph. aureus* isolados com reação positiva no teste da coagulase, seguido da característica hemolítica em meio ágar sangue, e aglutinação em látex. Os isolados identificados como cocos catalase-negativos foram submetidos às provas de reação de CAMP, esculina, crescimento em meio bile-esculina e Pyr para diferenciação entre *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. uberis* ou outros *Streptococcus* e *Enterococcus* spp.

Para identificação de *E. coli* e *Klebsiella* spp., foi estriado 0,01 mL de leite em ágar MacConkey. A confirmação desses agentes foi através das provas adicionais de oxidase, motilidade e gás, indol, Voges-Proskauer, urease e descarboxilação da ornitina.

A amostra foi considerada positiva para patógenos contagiosos (*Staph. aureus* e *Strep. agalactiae*) quando pelo menos uma colônia (100 ufc/ml) fosse isolada no campo de estriamento da placa. Enquanto que para microrganismos ambientais (*E. coli*, estreptococos ambientais e *Klebsiella* spp.) ≥ duas colônias (≥ 200 ufc/mL) foram identificadas (DOHOO et al., 2011).

5.9. CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) E COMPOSIÇÃO DO LEITE.

Para realização das análises de contagem de células somáticas e composição do leite (gordura, proteína bruta, caseína, lactose e sólidos totais), foram coletados 20 ml de colostro em frasco plástico contendo bronopol, com 3 e 7 dias após o parto e enviado em até 5 dias para análise no Laboratório Clínica do Leite – Departamento de Produção Animal da ESALQ-USP (Piracicaba – SP).

As concentrações de gordura, lactose, sólidos totais, proteína bruta e caseína foram analisadas por absorção infravermelha através do analisador

MilkoScanTM FT+. A contagem eletrônica de células somáticas foi realizada pelo método de citometria de fluxo (ARASHIRO; TEODORO; MIGUEL, 2006).

5.10. AVALIAÇÃO DO PERFIL CELULAR DO COLOSTRO

Para as análises de perfil celular amostras de colostro foram coletadas em tubos falcon de 50 ml estéreo antes da primeira mamada e 24 horas pós-parto.

As amostras foram diluídas com o mesmo volume de phosphate buffered saline PBS (por exemplo: 25 ml de colostro diluídas com 25 ml de PBS) e centrifugadas a 1000xg por 15 minutos a 4°C, conforme descrito por Koess; Hamann, (2008). Após a centrifugação, o sobrenadante foi armazenado para as análises e o botão celular, conservado na superfície inferior do frasco, sendo capturados por meio de aspersão gentil com 30 ml de PBS. Uma nova centrifugação foi realizada a 400xg por 10 minutos a 4°C. Após desprezar o sobrenadante as células foram ressuspensas em 1 ml de meio de PBS (KOESS; HAMANN, 2008).

Foram confeccionadas duas lâminas por esfregaço. As lâminas foram fixadas com álcool metílico e coradas. A leitura das lâminas foi realizada por microscopia óptica de imersão em aumento de 800x. Para a contagem diferencial foram analisadas 300 células.

5.11. DOSAGEM DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS NO COLOSTRO

Para as análises imunoglobulinas G as amostras de colostro foram coletadas em tubos falcon de 50 ml estéreo antes da primeira mamada e 24 horas pós-parto.

As amostras foram diluídas com o mesmo volume de PBS e centrifugadas a 1000xg por 15 minutos a 4°C, conforme descrito por Koess; Hamann, (2008). Após a centrifugação, o sobrenadante foi armazenado para as análises.

O ensaio de ELISA foi realizado para verificar no colostro, a presença de anticorpos IgG capazes de reconhecer a proteína KLH.

Placas de poliestireno de 96 poços (NUNC, Inc. Naperville USA) foram incubadas com a preparação de KHL (1%) em tampão carbonato de sódio 0,2M, pH 9,6 (50mL/poço). Após 24 horas de incubação a 4°C, o conteúdo líquido de cada poço foi removido através de lavagens sucessivas com PBS contendo 0,05% de Tween-20 (PBS-T/Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), seguindo-se bloqueio (100mL/poço) com gelatina a 3% diluída em PBS-T, por 1 hora a 37°C, em banho maria. As placas foram lavadas uma vez com PBS-T e incubadas com as amostras do soro pré-imune (controle) e imune (teste), em diferentes diluições na solução de bloqueio (gelatina 1%), por 2 horas a 37°C. Após 4 lavagens com PBS-T, foram incubadas com anticorpos anti-IgG de camundongo (100mL/poço). Para dosagem de IgG, foi utilizado anticorpo de carneiro anti-IgG equina conjugado a peroxidase (Bethyl Laboratories INC, Montgomery, Texas, USA). Após 1 hora de incubação a 37°C, os poços foram lavados 4 vezes com PBS-T e em seguida a reação antígeno-anticorpo foi revelada pela adição de 100mL/poço da solução reveladora [peróxido de hidrogênio 0,1% (30 vol, 19mL) (Merck S.A., Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, BR), ortofenilenodiamina (5mg) (p/v) (Sigma), ácido cítrico 0,1M (3mL), fosfato de sódio 0,2M (3,2mL) pH 5,5 e água destilada (6,25mL)], com incubação por 10 minutos ao abrigo da luz.

A reação enzimática foi bloqueada pela adição de 50mL de ácido sulfúrico 2M. A leitura de absorbância foi feita em comprimento de onda de 405nm em leitor automático de ELISA (Multiskan MMC/340 P, Version 2.20).

5.12. DOSAGEM DE TGF- β 1

Para as análises TGF- β 1 as amostras de colostro foram coletadas em tubos falcon de 50 ml estéril antes da primeira mamada e 24 horas pós-parto.

As amostras foram diluídas com o mesmo volume de PBS e centrifugadas a 1000xg por 15 minutos a 4°C, conforme descrito por Koess; Hamann, (2008). Após a centrifugação, o sobrenadante foi armazenado para as análises.

Para a realização do ensaio imunoenzimático para quantificação do TGF- β foi utilizada a amostra de sobrenadante do colostro, através do kit TGF- β ELISA (HUMAN TGF- β ; R & D Systems), de acordo com o protocolo do fabricante.

Figura 4 Esquema das coletas de colostro das éguas

Fonte: Bianconi, C. (2018)

5.13. DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINA G NO SORO

A coleta de sangue foi realizada através de punção da veia jugular, utilizando agulhas 25 x 0,8 mm e tubos em sistema a vácuo (B-D Vacutainer®) sem anticoagulante para amostras destinadas à obtenção de soro.

Para a separação do soro, o sangue foi centrifugado imediatamente após colheita a 3000xg por 10 minutos sendo o soro removido e armazenado em microtubos de 1,5ml a -20°C até a realização das análises.

As coletas dosagem de imunoglobulina G nos potros ocorreram antes da primeira mamada, 12 horas, 24 horas, 7 dias, 15 dias, 30 dias e 45 dias pós-parto. Nas éguas as coletas ocorreram com 30 dias de suplementação (no mesmo momento da imunização com KLH), 75 dias de suplementação e antes da primeira mamada.

O ensaio de ELISA foi realizado para verificar no soro das éguas e dos potros, a presença de anticorpos IgG capazes de reconhecer a proteína KLH.

Placas de poliestireno de 96 poços (NUNC, Inc. Naperville USA) serão incubadas com a preparação de KHL (1%) em tampão carbonato de sódio 0,2M, pH 9,6 (50mL/poço). Após 24 horas de incubação a 4°C, o conteúdo líquido de cada

poço será removido através de lavagens sucessivas com PBS contendo 0,05% de Tween-20 (PBS-T/Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), seguindo-se bloqueio (100mL/poço) com gelatina a 3% diluída em PBS-T, por 1 hora a 37°C, em banho maria. As placas serão lavadas uma vez com PBS-T e incubadas com as amostras do soro pré-imune (controle) e imune (teste), em diferentes diluições na solução de bloqueio (gelatina 1%), por 2 horas a 37°C. Após 4 lavagens com PBS-T, deve-se incubar com anticorpos anti-IgG de camundongo (100mL/poço). Para dosagem de IgG, será utilizado anticorpo de carneiro anti-IgG equina conjugado a peroxidase (Bethyl Laboratories INC, Montegmory, Texas, USA). Após 1 hora de incubação a 37°C, os poços serão lavados 4 vezes com PBS-T e em seguida a reação antígeno-anticorpo será revelada pela adição de 100mL/poço da solução reveladora [peróxido de hidrogênio 0,1% (30 vol, 19mL) (Merck S.A., Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, BR), ortofenilenodiamina (5mg) (p/v) (Sigma), ácido cítrico 0,1M (3mL), fosfato de sódio 0,2M (3,2mL) pH 5,5 e água destilada (6,25mL)], com incubação por 10 minutos ao abrigo da luz.

A reação enzimática será bloqueada pela adição de 50mL de ácido sulfúrico 2M. A leitura de absorbância será feita em comprimento de onda de 405nm em leitor automático de ELISA (Multiskan MMC/340 P, Version 2.20).

Figura 5 Esquema das coletas sanguíneas dos potros

5.14. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e oito repetições por tratamento, com diferentes medidas repetidas no tempo.

5.15. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as variáveis relacionadas a presença ou ausência de microrganismos no leite (Stap, Stap_neg e Bast) foi adotado o Teste Exato de Fischer para avaliação dos tratamentos.

Para as variáveis IgG (no parto e 24 horas pós parto; nas éguas e nos Potros), TGF- β e as variáveis composição do leite foi adotado um modelo misto para análises de medidas repetidas (Littell et al., 1998): $y_{ijk} = \mu + \alpha_i + a_{ij} + t_k + (\alpha t)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$ em que y_{ijk} é a resposta à avaliação k do animal j no tratamento i; μ , a média geral; α_i é o efeito fixo do tratamento i; a_{ij} é o efeito aleatório do animal j no tratamento i; t_k , o efeito fixo do tempo k; $(\alpha t)_{ik}$, o efeito de interação dupla do sexo com o tempo; e ε_{ijk} , o erro aleatório. O efeito fixo α_i foi considerado fator de variação entre os animais e as medidas repetidas dentro do animal. O efeito a_{ij} foi considerado independente e com variância σ_a^2 . Diferentes estruturas de covariâncias foram avaliadas e selecionadas pela comparação dos modelos, com base no critério de AIC proposto por Akaike (1974).

Para as variáveis do perfil celular do colostro (MONO e POLI), foi adotado o modelo misto generalizado para análises de medidas repetidas. O modelo estatístico contemplou os mesmos efeitos fixos e aleatórios anteriormente citados, pressupondo distribuições binomial e função de ligação *logit*.

Todas as análises foram realizadas com auxílio dos procedimentos PROC FREQ, PROC MIXED e PROC GLIMMIX do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.4 (SAS, 2002)

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testes preliminares foram realizados para que não houvessem alterações dos resultados.

6.1. HIGIEDEZ DOS ANIMAIS

Todos os animais demonstraram-se hígidos durante a fase experimental, sem apresentarem alterações clínicas. Os resultados dos hemogramas dos potros estão apresentados no apêndice A e os resultados das éguas no apêndice B. Os valores obtidos estão dentro da normalidade de acordo com a referência citado por Bernard; Barr (2012).

No apêndice C, são apresentados os valores da relação neutrófilo/linfócitos, demonstrando que todos os potros obtiveram uma relação >2.5 , descartando assim a prematuridade (JEFFCOTT; ROSSDALE; LEADON, 1982).

6.2. ANÁLISE MICROBIOLOGICA

Para descartar a hipótese de mastite nas éguas foram realizados o teste de caneca de fundo escuro, análise microbiológica e contagem de células somáticas, já que poderia ter interferência nos resultados se houvesse a patologia.

Nenhuma égua apresentou sinais clínicos de mastite, não foram observadas alterações nas análises microbiológicas (tabelas 4 e 5) e nem na contagem de células somáticas (tabela 5), por tanto não tivemos nenhuma égua com mastite.

Tabela 4 Prevalência de microrganismos causadores de mastite em éguas em diferentes tempos

Micro		Tempo									χ^2
		0			1			2			
		Freq	PTA(%)	PN(%)	Freq	PTA(%)	PN(%)	Freq	PTA(%)	PN(%)	
Stap	Pos	0	0	0	0	0	0	1	2,17	7,69	0,28
	Neg	16	34,78	100	17	36,96	100	12	26,09	92,31	
Stap_Neg	Pos	2	4,35	12,5	2	4,35	11,76	1	2,17	7,69	0,91
	Neg	14	30,43	87,5	15	32,61	88,24	12	26,09	92,31	
Bast	Pos	5	10,87	31,25	0	0	0	0	0	0	0,01*
	Neg	11	23,91	68,75	17	36,96	100	13	28,26	100	

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: Stap: *Staphylococcus aureus*; Stap_Neg: *Staphylococcus coagulase negativa*; Bast: outros bastonetes; Pos: positivo; Neg: negativo; Freq: frequência; PTA: percentual total da amostra; PN: percentual dentro do nível; χ^2 : P valor oriundo do teste qui-quadrado; *P(<0,05)

Tabela 5 Prevalência de microrganismos causadores de mastite em éguas dos grupos, controle e tratamento

Micro		Dieta experimental						χ^2
		Controle			Tratamento			
		Freq	PTA(%)	PN(%)	Freq	PTA(%)	PN(%)	
Stap	Positivo	0	0	0	1	2,17	4,55	1,12
	Negativo	24	52,17	100	21	45,65	95,45	
Stap_Neg	Positivo	2	4,35	8,33	3	6,52	13,64	0,33
	Negativo	22	47,83	91,67	19	41,3	86,36	
Bast	Positivo	2	4,35	8,33	3	6,52	13,64	0,33
	Negativo	22	47,83	91,67	19	41,3	86,36	

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: Stap: *Staphylococcus aureus*; Stap_Neg: *Staphylococcus coagulase negativa*; Bast: outros bastonetes; Freq: frequência; PTA: percentual total da amostra; PN: percentual dentro do nível; χ^2 : P valor oriundo do teste qui-quadrado; *P(<0,05)

Os patógenos relacionados com a mastite podem ser divididos em dois grupos, patógenos primários (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* e agente ambientais) e secundários (*Staphylococcus coagulase negativa* e *Corynebacterium spp*). Nos patógenos primários acontece alta contagiosidade, aumento da contagem de células somáticas (>200.000 cells/mL),

lesões nos tecidos mamários, já nos patógenos secundários, eles podem ou não ser contagiosos, aumento moderado da CCS, pouca ou nenhuma agressão ao tecido mamário (SHARIF et al., 2009).

A contagem de células somáticas (CCS) inclui leucócitos e células epiteliais, as quais aumentam significativamente em caso de infecções na glândula mamária. Constitui-se em método seguro para o diagnóstico das mastites (ROSSI, 1993). Para o leite de éguas, a CCS é um parâmetro pouco relatado apesar dos pesquisadores já reconhecerem a necessidade da realização de estudos na tentativa de validar este indicador de inflamação para esta espécie, uma vez que a mastite, detectada pela CCS, pode atingir até 10% das éguas em lactação. Éguas com mastite podem resultar em mau desenvolvimento do potro, além de comprometer a qualidade do leite para os humanos (REIS et al., 2007).

6.3.COMPOSIÇÃO DO LEITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Os resultados da composição do leite das éguas em diferentes tempos experimentais estão demonstrados na tabela 5. Foi possível observar efeito de tempo no teor de gordura, proteína, extrato seco desengordurado e sólidos totais.

Tabela 6 Média $\pm$ erro padrão da composição do colostro das éguas em diferentes tempos experimentais

Variáveis	Tempos experimentais		Valor de P
	t0	t1	
CCS (x mil/ml)	69,54 $\pm$ 43,27	77,47 $\pm$ 43,53	0,34
GOR (% m/m)	1,45 $\pm$ 0,08	1,20 $\pm$ 0,10	0,04*
PROT (% m/m)	3,22 $\pm$ 0,08	2,76 $\pm$ 0,09	0,02**
LACT (% m/m)	5,87 $\pm$ 0,08	6,11 $\pm$ 0,10	0,11
ST (% m/m)	11,40 $\pm$ 0,12	10,86 $\pm$ 0,14	0,01**
ESD (% m/m)	9,94 $\pm$ 0,09	9,68 $\pm$ 0,10	0,03*

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: CCS: contagem de células somáticas; GOR: teor de gordura; PROT: teor de proteína; LACT: teor de lactose; ST: teor de sólidos totais; ESD: teor de extrato seco desengordurado; t0: três dias após o parto; t1: sete dias após o parto. *P(<0,05); **P(<0,01); ***P(<0,001).

O estagio da lactação é o fator que mais influência nas variações dos componentes do leite. Muitos componentes são conhecidos por serem mais concentrado no início da lactação, havendo uma redução gradativa dos componentes do leite ao longo da lactação, apenas com exceção da lactose (SANTOS; ZANINE, 2006; COSTA, 2013), como observado no presente estudo.

Os valores de teor proteína, foram menores no t1 (7 dias após o parto) quando comparado com t0 (3 dias após o parto), tal resultado é concordante com os valores encontrados por Ariani et al. (2001), que analisaram a composição do leite de 5 éguas até 180 dias pós parto. O mesmo ocorre quando comparamos com os

valores encontrados por Bernardineli (2014), que avaliou a composição do leite de 36 éguas e também encontrou uma diminuição nos teores de proteína. Esses teores podem variar dentro das raças, pelo estágio da lactação e alimentação, havendo uma diminuição nos teores de proteína no decorrer da lactação (POTOČNIK; GANTNER, 2011; COSENTINO et al., 2017).

O mesmo ocorreu com a gordura no leite, também podemos observar que houve uma queda nos valores com o decorrer da lactação. Os valores observados são semelhantes aos encontrados por Ariani et al. (2001); Centini (2012); Cosentino et al. (2017) e estão dentro da faixa de normalidade, que varia de 1 a 2% (DOREAU; F.MARTUZZI, 2006).

Houve um decréscimo significativo para os valores de sólidos totais nos diferentes tempos avaliados, essa diminuição também foi relatada por Centini (2012); Markiewicz-Keszycka et al. (2015), essa diminuição se deve principalmente pela redução da proteína. Os valores que encontramos são semelhantes aos autores citados acima.

Os valores obtidos nesse estudos para extrato seco desengordurado são semelhantes aos citados por outros autores, que também relataram uma diminuição progressiva ao longo da lactação (CENTINI, 2012; BERNARDINELI, 2014).

O resultado da composição do leite das éguas tratadas com diferentes dietas experimentais está apresentado na Tabela 7. Foi possível observar que não houve efeito de tratamento em nenhuma das variáveis, o que corrobora com os valores encontrados por Yalçın et al. (2011), suplementando 50g/animal/dia de *Saccharomyces cerevisiae* a dieta de vacas leiteiras.

Tabela 7 Média $\pm$ erro padrão da composição do colostro das éguas em diferentes dietas experimentais

Variáveis	Dietas experimentais		Valor de P		
	Controle	Suplementado	Trat	Tempo	Trat*Tempo
CCS (x mil/ml)	115,68 $\pm$ 61,12	31,33 $\pm$ 61,16	0,37	0,34	0,67
GOR (% m/m)	1,50 $\pm$ 0,11	1,15 $\pm$ 0,11	0,06	0,04*	0,99
PROT (% m/m)	2,96 $\pm$ 0,10	3,02 $\pm$ 0,10	0,71	0,01**	0,06
LACT (% m/m)	5,98 $\pm$ 0,09	6,00 $\pm$ 0,10	0,87	0,11	0,82
ST (% m/m)	11,27 $\pm$ 0,17	10,99 $\pm$ 0,17	0,27	0,01**	0,18
ESD (% m/m)	9,85 $\pm$ 0,12	9,77 $\pm$ 0,12	0,66	0,03*	0,14

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: CCS: contagem de células somáticas; GOR: teor de gordura; PROT: teor de proteína; LACT: teor de lactose; ST: teor de sólidos totais; ESD: teor de extrato seco desengordurado;

*P(<0,05); **P(<0,01); ***P(<0,001).

Já Mašek et al. (2008) avaliando o efeito da levedura *Saccharomyces cerevisiae* sobre a composição do leite de ovelhas encontrou significância para os teores de gordura e lactose, com a dose de 6g/animal/dia, mas não houve efeito para as demais variáveis.

Em um estudo com cabras leiteiras, Stella et al., 2007, suplementaram os animais com 2g/dia de *S. cerevisiae*, três meses antes da data de previsão do parto e 105 dias após o parto e avaliaram o efeito sobre a composição do leite, encontraram uma maior produção leiteira em cabras suplementadas em relação a cabras controle e um menor teor de gordura para aquelas que receberam a levedura.

Na Figura 6 (A, B, C, D, E e F) estão representadas as médias $\pm$ erro padrão dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas respectivamente, em diferentes dietas e tempos experimentais.

Figura 6 Concentrações de gordura (A), sólidos totais (B), proteína (C), extrato seco desengordurado (D), lactose (E), contagem de células somáticas (F), no colostro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: 3 dias pós parto; t1: 7 dias pós parto

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: 3 dias pós parto; t1: 7 dias pós parto.

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: 3 dias pós parto; t1: 7 dias pós parto.

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: 3 dias pós parto; t1: 7 dias pós parto.

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: 3 dias pós parto; t1: 7 dias pós parto.

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: 3 dias pós parto; t1: 7 dias pós parto.

6.4. PERFIL CELULAR DO COLOSTRO

Na figura 7 estão representados os valores percentuais de células mononucleares em relação ao total das células avaliadas, encontrados no colostro das éguas em diferentes tempos e dietas experimentais.

Figura 7 Porcentagem de células mononucleares em relação ao total de células analisadas em diferentes dietas e tempos experimentais

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: imediatamente após o parto; t1: 24 horas após o parto. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as médias observadas. (P= 0.05).

Foi possível observar que houve efeito da inclusão da levedura viva na dieta, as éguas que foram suplementadas tiveram um colostro com uma maior quantidade de células mononucleares em relação as éguas controle.

A predominância de células mononucleares presentes no colostro encontrada nesse trabalho corrobora com Petrelli et al. (2014), que avaliando o perfil celular do colostro de nove éguas, relataram que a célula em maior escala encontrada foi o macrófago seguido por linfócitos e neutrófilos.

O aumento observado para o percentual de células mononucleares no colostro de éguas suplementadas é um achado importante, pois as células mononucleares são predominantemente compostas por linfócitos e macrófagos (GOMES et al.,

2017) e, as imunoglobulinas são produzidas pelos linfócitos B e plasmócitos (formas diferenciadas das células B) (BARNA, 2001), assim, a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* em dietas de éguas poderá melhorar a qualidade celular do colostro, ocasionando em otimização do desenvolvimento imune do potro.

Nesse sentido, os linfócitos derivados do leite podem atravessar o intestino neonatal, sugerindo que sua influência se estende além do intestino, além disso, os linfócitos maduros ativados por antígenos podem ajudar a compensar a baixa capacidade de apresentação de antígenos dos macrófagos. (FIELD, 2005).

Na figura 8 estão representados os valores de células polinucleares em relação ao total das células avaliadas em porcentagem, encontrados no colostro das éguas em diferentes tempo e dietas experimentais.

Figura 8 Porcentagem de células mononucleares em relação ao total de células analisadas em diferentes dietas e tempos experimentais

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: imediatamente após o parto; t1: 24 horas após o parto. Letras diferentes representam diferenças estatísticas entre as médias observadas ($P= 0.05$)

É possível que o aumento de células polinucleares no colostro das éguas do grupo controle tenha sido ocasionado pelo aumento da contagem de células somáticas nesse grupo, mesmo não havendo significância, houve um aumento numérico considerável, o que provavelmente ocasionou em uma liberação maior de neutrófilos.

6.5. QUANTIFICAÇÃO DE IgG NO COLOSTRO

As médias e erro padrão da média nos diferentes tempos experimentais estão representadas na Tabela 8. Houve efeito de tempo para a concentração de IgG.

Tabela 8 Média e erro padrão da média da concentração de IgG no colostro das éguas em diferentes tempos experimentais

Item	Tempos experimentais		Valor de P
	0	24 horas	
IgG	1,23±0,20	0,48±0,20	<0,01***

IgG: imunoglobulina G. *P(<0,05); **P(<0,01); ***P(<0,001).

As médias e erro padrão da média das diferentes dietas experimentais estão representadas na tabela 9. A suplementação com levedura a dieta das éguas não causou efeito nos níveis de IgG colostrais.

Tabela 9 Média e erro padrão da média das concentrações de IgG no colostro das éguas em diferentes dietas experimentais

Item	Dietas experimentais		Valor de P		
	Controle	Suplementado	Trat	Tempo	Trat*Tempo
IgG	0,96±0,20	0,75±0,20	0,11	<0,01***	0,49

IgG: imunoglobulina G. *P(<0,05); **P(<0,01); ***P(<0,001).

Na Figura 9 estão representadas as concentrações de IgG em diferentes dietas e tempos experimentais.

Figura 9 Concentração de IgG no colostro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: imediatamente após o parto; t1: 24 horas após o parto. (P= 0.59)

Avaliando as concentrações de imunoglobulinas do tipo G presentes no colostro de 17 éguas Lang et al.(2007), encontraram uma queda acentuada nos níveis de IgG, mas, ao contrário de outros autores (JEFFCOTT, 1974a; KOTERBA; WH; PC, 1990), não encontraram níveis insignificantes de imunoglobulinas 24 horas após o parto. O mesmo ocorreu com as IgG capazes de reconhecerem o KLH (tabela 8 e figura 11) desse estudo, onde também podemos observar uma queda, mas, com 24 horas após o parto observamos níveis de imunoglobulinas presente no colostro.

Avaliando o efeito da suplementação na dieta de porcas com diferentes níveis de inclusão (0,05 e 0,5/Kg/dieta) de *Saccharomyces cerevisiae*, sobre as concentrações de IgG no colostro Zanello et al. (2013), encontraram aumento significativo, independente dos níveis de inclusão, o que difere do encontrado por Jang et al.(2013) que também suplementaram porcas gestantes e em lactação e observaram apenas uma tendência para aumento valores de IgG colostrais.

6.6. QUANTIFICAÇÃO DE TGF-B NO COLOSTRO

As médias e erro padrão da média nos diferentes tempos experimentais estão representadas na Tabela 10. Houve efeito de tempo para TGF- β 1.

Tabela 10 Concentração de TGF- β 1 no colostro das éguas em diferentes tempos experimentais

Item	Tempos experimentais		Valor de P
	0	24 horas	
TGF_β1	5100,86 $\pm$ 414,23	386,84 $\pm$ 397,78	<0,01***

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: TGF- β 1: fator transformador do crescimento β 1. *P(<0,05); **P(<0,01); ***P(<0,001).

Essa queda acentuada nos valores de TGF_ β 1 pouco tempo após o parto também ocorre em outras espécies e foram relatadas por outros autores (ODDY; ROSALES, 2010; SILVA, 2015; LOPES; PINTO; PERRONE, 2016).

As médias e erro padrão da média das concentrações de TGF- β 1 no colostro das éguas em diferentes dietas experimentais estão representadas na Tabela 11, não foi possível observar efeito de tratamento nas concentrações de TGF- β 1 no colostro das éguas.

Tabela 11 Concentração de TGF- β 1 no colostro das éguas em diferentes dietas experimentais

Item	Dietas experimentais		Valor de P		
	Controle	Suplementado	Trat	Tempo	Trat*Tempo
TGF_β1	2474,95 $\pm$ 262,24	3012,76 $\pm$ 510,92	0,36	<0,01***	0,56

Fonte: Bianconi, C. (2018)

TGF- β 1: fator transformador do crescimento β 1; *P(<0,05); **P(<0,01); ***P(<0,001)

Na Figura 10 estão representadas as concentrações de TGF- β 1 nas diferentes dietas e tempos experimentais. Podemos observar que houve uma diferença numérica na concentração de TGF- β 1 no grupo tratado em relação ao grupo controle nos dois tempos experimentais.

Figura 10 Concentração de TGF- β 1 no colostro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: t0: imediatamente após o parto; t1: 24 horas após o parto.

Existem poucos relatos sobre quais fatores imunológicos estão presentes no colostro e no leite das éguas. Estudos em animais de fazenda sugerem que os leucócitos e citocinas colostrais tem um papel importante na transferência da imunidade passiva da mãe para o neonato. O fator de crescimento transformador beta (TGF- β) foi previamente identificado como tendo o potencial de causar impacto nos resultados imunológicos nos recém-nascidos (PORTO et al., 2014).

Essas descobertas abrem novas oportunidades de pesquisa para investigar o papel dos linfócitos e citocinas colostrais na estimulação e desenvolvimento da resposta imune do potro. Além disso, novas estratégias de vacinas podem ser desenvolvidas para proteger potros contra microrganismos intracelulares como o *Rhodococcus equi* (PORTO et al., 2014).

6.7. IgG SÉRICO DAS ÉGUAS

As médias e erro padrão da média das concentrações de IgG no soro das éguas em diferentes dietas experimentais estão representadas na Tabela 12, não houve efeito nas médias com a adição da levedura.

Tabela 12 Concentração de IgG no soro das éguas em diferentes dietas experimentais

Item	Dietas experimentais		Valor de P		
	Controle	Suplementado	Trat	Tempo	Trat*Tempo
IgG éguas	0,77±0,06	0,65±0,05	0,17	0,27	0,70

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: IgG éguas: imunoglobulinas G presentes no soro das éguas

As médias e erro padrão da média das concentrações de IgG no soro das éguas das diferentes dietas experimentais estão representadas na figura 11, é possível observar que não houve efeito nas médias com a adição da levedura em nenhum dos tempos experimentais.

Figura 11 Concentração de IgG no soro das éguas em diferentes dietas e tempos experimentais

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: ¹t0: 30 dias após o início da suplementação; t1: 75 dias após o início da suplementação; t3: imediatamente após o parto.

Os dados encontrados no presente trabalho corroboram com os relatados por Jang et al. (2013) que também não encontraram aumento nos níveis de IgG sérico nas porcas suplementadas com levedura.

6.8. IgG SÉRICO DOS POTROS

Na Tabela 13 estão representadas as médias e erro padrão da média da concentração de IgG no soro dos potros em diferentes tempos experimentais, podemos observar que houve efeito de tempo.

Tabela 13 Média $\pm$ erro padrão da concentração de IgG no soro dos potros em diferentes tempos experimentais

Item	Tempos experimentais							Valor de P
	t0	t1	t2	t3	t4	t5	t6	
IgG potros	0,01 $\pm$ 0,10	0,90 $\pm$ 0,10	0,90 $\pm$ 0,10	0,61 $\pm$ 0,10	0,67 $\pm$ 0,10	0,59 $\pm$ 0,10	0,50 $\pm$ 0,10	<.0,01***

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Legenda: ¹t0: imediatamente após o parto; t1: 12 horas após o parto; t2: 24 horas após o parto; t3: 7 dias após o parto; t4: 15 dias após o parto; t5: 30 dias após o parto; t6: 45 dias após o parto

As médias $\pm$ erro padrão das concentrações de IgG no soro dos potros em diferentes dietas experimentais estão representadas na Tabela 14, não houve efeito nas médias com a adição da levedura.

Tabela 14 . Média $\pm$ erro padrão da concentração de IgG no soro dos potros em diferentes dietas experimentais

Item	Dietas experimentais		Valor de P		
	Controle	Suplementado	Trat	Tempo	Trat*Tempo
IgG potros	0,63 $\pm$ 0,06	0,57 $\pm$ 0,04	0,48	<0,01***	0,97

Fonte: Bianconi, C. (2018)

Foi verificado que os potros atingiram valores séricos de IgG semelhante aos os valores obtidos das éguas com 12 e 24 horas após o parto, e com 7 dias, houve uma queda nesses valores, diferente do que foi encontrado por Holznagel et al. (2015) que estudaram a relação dos níveis de IgG presentes no soro dos potros e correlacionaram com os níveis séricos das éguas e relataram que a queda foi com 4 semanas após o parto. Essa diferença nos valores encontrados pode ter acontecido devido aos tempos de coletas serem diferentes, onde, no estudo eles realizaram a coleta com 3 dias após o parto e depois somente com 4 semanas após o parto.

Não é possível comparar os valores absolutos encontrados nesse estudo por que os valores que temos são referentes somente a IgG capaz de reconhecer KLH, mas analisando os valores descritos por Tscheschlok; Venner; Howard (2017) podemos notar que há semelhanças de como os valores se comportaram até 24 horas após o parto, o mesmo ocorreu com os valores encontrados no estudo realizado por Lang et al.(2007).

As concentrações de IgG no soro dos potros em diferentes tempos e dietas experimentais estão demonstradas na Figura 12.

Figura 12 Concentração de IgG no soro dos potros em diferentes dietas e tempos experimentais

Fonte: Bianconi, C. (2018)

¹t0: imediatamente após o parto; t1: 12 horas após o parto; t2: 24 horas após o parto; t3: 7 dias após o parto; t4: 15 dias após o parto; t5: 30 dias após o parto; t6: 45 dias após o parto. (P=0.97)

Alguns autores citam que o pico sérico de IgG dos potros se dá com 18 horas após o parto (JEFFCOTT, 1974b; LIEPMAN et al., 2015), sendo então normalmente recomendado a realização do teste de transferência de imunidade passiva com 18-24 horas após o parto (PUSTERLA et al., 2002; DAVIS; GIGUERE, 2005; ELSOHABY; RILEY; MCCLURE, 2018). Quando diagnosticado a falha de transferência de imunidade passiva, o tratamento com colostro fica limitado, uma vez que, após 24 horas de nascido a absorção intestinal de imunoglobulinas é praticamente nula (BERNARD; BARR, 2012; FRANCESCA et al., 2017). No presente estudo foi observado o pico de IgG nos potros 12 horas após o parto, sugerindo assim que o teste de transferência de imunidade passiva possa ser realizado com 12 horas, o que possibilitaria o tratamento da falha de transferência de imunidade passiva com o colostro que nesse período ainda haveria absorção de imunoglobulinas colostrais pela mucosa do intestino do potro.

A inclusão da levedura viva na dieta das éguas, não causou efeito nos níveis séricos de IgG dos potros, o que pode ser explicado pela não diferença nos níveis de IgG colostrais. O nível de IgG do potro é totalmente correlacionado com o nível de IgG presente no colostro da mãe (FINGER; LINS; NOGUEIRA, 2010).

Em estudo Jang et al. (2013) testando diferentes níveis de inclusão de levedura viva na dieta de porcas gestantes, encontraram aumento nos níveis de IgG nos leitões. Com o nível de inclusão de 10^7 UFC/g/dieta, relataram também que foi encontrado uma tendência no aumento de IgG no colostro das porcas.

Com os mesmos objetivos, Zanello et al. (2013) reportaram aumento nos níveis de IgG em leitões de porcas suplementadas com diferentes níveis de inclusão de *Saccharomyces cerevisiae* (0,05 e 0,5/Kg/dieta), também, com os níveis mais elevados de IgG no colostro.

Como observado, não houve efeito da suplementação, para a maioria das variáveis estudadas nesse experimento, em relação à inclusão da levedura viva na dieta das éguas, exceto para o perfil celular do colostro. É possível que não tenhamos encontrado efeito da inclusão, porque a ação dos probióticos em equinos é limitada, pela dificuldade de modificar uma comunidade microbioma estável. O

mesmo não ocorre em animais com disbiose e em potros que tem a sua microbiota ainda imatura (SCHOSTER, 2018) e todos os animais utilizados no presente estudo estavam em condições normais de higiene e seu manejo nutricional adequado para a categoria, o que, possivelmente tenha evitado uma disbiose da microbiota desses animais.

A suplementação com levedura á dieta de éguas gestantes melhorou o perfil celular do colostro de éguas, com aumento das células mononucleares, foi possível observar também aumento numérico nos níveis de TGF- β presentes no colostro, o que sugere que o probiótico teve efeito na modulação da imunidade em nível celular.

7. CONCLUSÃO

A suplementação com levedura viva *Saccharomyces cerevisiae* na dieta na dieta de éguas no terço final da gestação, melhora a qualidade do colostro no que se refere ao perfil celular porém não melhora a transferência de imunidade passiva dos potros.

8. IMPLICAÇÕES

As pesquisas relacionadas com a avaliação da transferência de imunidade passiva em potros, na maioria das vezes se predem a avaliar as causas, diagnóstico e tratamento da falha de transferência. São recentes e escassos os trabalhos com o objetivo de avaliação da melhoria ou garantia da qualidade de transferência de imunidade passiva em potro. Esse trabalho é o início de uma linha de pesquisa visando avaliar as possibilidades de melhoria de transferência de imunidade passiva em potros.

Existe pouco consenso em relação ao uso de probióticos para equinos e se necessita de um melhor conhecimento sobre a composição e função da microbiota. É importante ter uma compreensão da microbiota normal, para permitir a avaliação do anormal. No entanto, o que realmente constitui normal é indescritível, porque podem haver variações acentuadas e uma infinidade de fatores podem influenciar a composição da microbiota em equinos saudáveis, portanto, uma ampla avaliação das populações é necessária para que se tenha uma compreensão do normal.

Os probióticos atuais consistem em uma ou algumas cepas que compõem uma pequena parte da microbiota intestinal. Portanto, com capacidade limitada para influenciar toda a microbiota gastrointestinal. A abordagem de administrar uma ou poucas cepas deve ser repensada tendo em vista a vasta microbiota dos equinos.

Novas pesquisas devem ser feitas para investigar o papel dos linfócitos e citocinas presentes no colostro na estimulação e desenvolvimento da resposta imune do potro e o efeito da levedura na imunomodulação em nível celular.

9. REFERÊNCIAS

AGAZZI, A.; FERRONI, M.; FANELLI, A.; MAROCCOLO, S.; INVERNIZZI, G.; DELL'ORTO, V.; SAVOINI, G. Evaluation of the Effects of Live Yeast Supplementation on Apparent Digestibility of High-Fiber Diet in Mature Horses Using the Acid Insoluble Ash Marker Modified Method. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 31, n. 1, p. 13–18, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2010.11.012>>.

ALEIXO, V. M. C. **MANEIO DA ÉGUA E DO POLDRO NO PERIPARTO** No Title. 2015. UNIVERSIDADE DE LISBOA Faculdade de Medicina Veterinária Instituto Superior de Agronomia, 2015.

ANDO, T.; HATSUSHIKA, K.; WAKO, M.; OHBA, T.; KOYAMA, K.; OHNUMA, Y.; KATOH, R.; OGAWA, H.; OKUMURA, K.; LUO, J.; WYSS-CORAY, T.; NAKAO, A. Orally administered TGF- β is biologically active in the intestinal mucosa and enhances oral tolerance. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 120, n. 4, p. 916–923, 2007.

ARASHIRO, E. K. .; TEODORO, V. A. .; MIGUEL, E. M. Mastite bovina: importância econômica e tecnológica. **Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, v. 61, p. 32–36, 2006.

ARGO, C. M. Nutritional Management of the Older Horse Horse Aged Geriatric Nutrition PPID Obesity Weight loss. **Veterinary Clinics of NA: Equine Practice**, v. 32, n. 2, p. 343–354, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2016.04.010>>.

ARIANI, P. M.; UMMER, A. S.; ARTUZZI, F. M.; ORMAGGIONI, P. F.; ABBIONI, A. S.; ATALANO, A. L. C. Physicochemical properties , gross composition , energy value and nitrogen fractions of Haflinger nursing mare milk throughout 6 lactation months. **Anim. Res.**, v. 50, p. 415–425, 2001.

BANDRICK, M.; ARIZA-NIETO, C.; BAIDOO, S. K.; MOLITOR, T. W. Colostral antibody-mediated and cell-mediated immunity contributes to innate and antigen-specific immunity in piglets. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 43, n. 1, p. 114–120, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dci.2013.11.005>>.

BARNA, G. A. de O. **Universidade de são paulo faculdade de ciências farmacêuticas da Universidade de São Paulo**. 2001. Universidade de São Paulo, 2001.

BERNARD, W.; BARR, B. S. **Equine Pediatric Medicine**. [s.l: s.n.]

BERNARDINELI, A. P. B. **Colostro e leite de éguas: composição, análise microbiológica e contagem de células somáticas**. 2014. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2014.

BILLOO, A. G.; MEMON, M. A.; KHASKHELI, S. A.; MURTAZA, G.; IQBAL, K.; SAEED SHEKHANI, M.; SIDDIQI, A. Q. Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 28, p. 4557–4560, 2006.

BOYD, N. K.; COHEN, N. D.; LIM, W. S.; MARTENS, R. J.; CHAFFIN, M. K.; BALL, J. M. Temporal changes in cytokine expression of foals during the first month of life. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 92, n. 1–2, p. 75–85, 2003.

CENTINI, T. N. **Efeito da suplementação dietética com ácidos graxos ômega 3 e 6 sobre a composição do colostro e leite de éguas e transferência imunitária para os potros**. 2012. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2012.

CIPRIANO-SALAZAR, M.; ADEGBEYE, M. J.; ELGHANDOUR, M. M. M. Y.; BARBABOSA-PILEGO, A.; MELLADO, M.; HASSAN, A.; SALEM, A. Z. M. The Dietary Components and Feeding Management as Options to Offset Digestive Disturbances in Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.12.017>>.

CONDITION, B.; ACTIVITY, R.; MARES, I. N. Condição corporal e atividade reprodutiva de éguas. p. 4–12, 2014.

COSENTINO, C.; PAOLINO, R.; ADAMO, C. D.; LABELLA, C. Colostrum and Milk Characteristics in Murgesse Breed Mares. n. October, 2017.

COSTA, G. V. da. **Avaliação do leite de éguas da raça crioula: composição e qualidade**. 2013. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

COSTA, M. C.; WEESE, J. S. Understanding the Intestinal Microbiome in Health and Disease. v. 34, p. 1–12, 2018.

CSAPÓ, J.; STEFLER, J.; MARTIN, T. G.; MAKRAY, S.; CSAPÓ-KISS, Z. Composition of mares' colostrum and milk. Fat content, fatty acid composition and vitamin content. **International Dairy Journal**, v. 5, n. 4, p. 393–402, 1995.

CZERUCKA, D.; PICHE, T.; RAMPAL, P. Review article: Yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 26, n. 6, p. 767–778, 2007.

DAVIS, R.; GIGUERE, S. Evaluation of five commercially available assays and measurement of serum total protein concentration via refractometry for the diagnosis of failure of passive transfer of immunity in foals. **Journal of the American veterinary medical association**, v. 10, p. 1640–5, 2005.

DOARE, K. Le; BELLIS, K.; FAAL, A.; BIRT, J.; MUNBLIT, D.; HUMPHRIES, H.; TAYLOR, S.; Warburton, F.; HEATH, P. T.; KAMPMANN, B.; GORRINGE, A. SIgA, TGF- β 1, IL-10, and TNF α in colostrum are associated with infant group B *Streptococcus* colonization. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. OCT, 2017.

DOHOO, I. R.; SMITH, J.; ANDERSEN, S.; KELTON, D. F.; GODDEN, S. Diagnosing intramammary infections: Evaluation of definitions based on a single milk sample. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 1, p. 250–261, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030210006922>>.

DOREAU, M.; F.MARTUZZI. Fat content and composition of mare's milk. **Nutrition and feeding of the broodmare**, n. January 2006, 2006.

DURAND, F. C.-; DURAND, H. Probiotics in Animal Nutrition and Health. **Beneficial Microbes**, v. 1, p. 3–9, 2010.

ELGHANDOUR, M. M. Y.; MELLADO, M.; KHOLIF, A. E.; SALEM, A. Z. M.; BARBABOSA, A.; BALLINAS, S.; ESQUIVEL, A.; ODONGO, N. E. Journal of Equine Veterinary Science Fecal Gas Production of Ten Common Horse Feeds Supplemented With *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 47, p. 1–8, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2016.07.008>>.

ELSOHABY, I.; RILEY, C. B.; MCCLURE, J. T. Usefulness of digital and optical refractometers for the diagnosis of failure of transfer of passive immunity in neonatal foals. **Equine Veterinary Journal**, p. 1–7, 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30417417>%0A<http://doi.wiley.com/10.1111/evj.13040>>.

FAO, J.; WORKING, W. H. O.; REPORT, G.; GUIDELINES, D.; LONDON, F. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. p. 1–11, 2002.

FIELD, C. J. The Immunological Components of Human Milk and Their Effect on Immune Development in Infants. **Recent Advances in Nutritional Sciences**, p. 1–4, 2005.

FINGER, I. S.; LINS, L. A.; NOGUEIRA, C. E. W. O sistema imune do potro neonato. In: **Neonatologia e pediatria equina**. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária da UFPel, 2010. p. 123.

FLAMINIO, M. J. B. F.; RUSH, B. R.; DAVIS, E. G.; HENNESSY, K.; SHUMAN, W.; WILKERSON, M. J. Characterization of peripheral blood and pulmonary leukocyte function in healthy foals. v. 73, p. 267–285, 2000.

FRANCESCA, F.; JOLE, M.; ALIAI, L.; CHIARA, C.; CAROLINA, C. Efficacy and Safety of a Commercial Fresh-Frozen Hyperimmune Plasma in Foals With Failure of Passive Transfer of Immunity. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 48, p. 174–181.e2, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2016.08.019>>.

FRANCO AYALA, M. S.; OLIVER-ESPINOSA, O. J. Risk Factors Associated With Failure of Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Neonatal Paso Fino Foals. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 44, p. 100–104, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2016.05.006>>.

FRAPE, D. **Nutrição & Alimentação de Equinos**. Terceira e ed. [s.l: s.n.]

GIGUÈRE, S.; POLKES, A. C. Immunologic disorders in neonatal foals. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 21, n. 2, p. 241–272, 2005.

GOMES, V.; BACCILI, C. C.; MARTIN, C. C.; RAMOS, J. S.; SILVA, N.; MADUREIRA, K. M. Colostro bovino : muito além das imunoglobulinas. v. 15, p. 99–108, 2017.

GRZES, M. C. C. Æ. Ł. Probiotic Strains and Their Combination Inhibit In Vitro Adhesion of Pathogens to Pig Intestinal Mucosa. p. 260–265, 2007.

HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine veterinary journal**, v. 15, p. 371–372, 1983.

HOLZNAGEL, D. L.; HUSSEY, S.; MIHALYI, J. E.; WILSON, W. D.; LUNN, D. P. Short Communications Onset of immunoglobulin production in foals. v. 35, n. 2003, p. 620–622, 2015.

HOROHOV, D. W. O sistema Imune do Equino. In: **Medicina Interna Equina**. [s.l: s.n.]

HUNTINGTON, P. J.; OWENS, E.; CRANDELL, K.; PAGAN, J. Nutritional Management Of Mares - The Foundation Of A Strong Skeleton - Kentucky Equine Research. n. September 2014, p. 14–35, 2007. Disponível em: <<https://ker.com/published/nutritional-management-of-mares-the-foundation-of-a-strong-skeleton/>>.

JANG, Y. D.; KANG, K. W.; PIAO, L. G.; JEONG, T. S.; AUCLAIR, E.; JONVEL, S.; D'INCA, R.; KIM, Y. Y. Effects of live yeast supplementation to gestation and lactation diets on reproductive performance, immunological parameters and milk composition in sows. **Livestock Science**, v. 152, n. 2–3, p. 167–173, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.022>>.

JEFFCOTT, L. B. Studies on passive immunity in the foal. I. γ -Globulin and antibody variations associated with the maternal transfer of immunity and the onset of active immunity. **Journal of Comparative Pathology**, v. 84, n. 1, p. 93–101, 1974a.

JEFFCOTT, L. B. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 6, p. 109–115, 1974b.

JEFFCOTT, L. B.; ROSSDALE, P. D.; LEADON, D. P. Haematological changes in the neonatal period of normal and induced premature foals. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32, 1982.

KIROS, T. G.; DERAKHSHANI, H.; PINLOCHE, E.; D'INCA, R.; MARSHALL, J.; AUCLAIR, E.; KHAFIPOUR, E.; VAN KESSEL, A. Effect of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* (Actisaf Sc 47) supplementation on the performance and hindgut microbiota composition of weanling pigs. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2018.

KOESS, C.; HAMANN, J. Detection of mastitis in the bovine mammary gland by flow cytometry at early stages. **Journal of Dairy Research**, n. 2008, 2008.

KOTERBA, A. M.; BREWER, B. D.; TARPLEE, F. A. Clinical and clinicopathological characteristics of the septicemic neonatal foal: review of 38 cases. **Equine veterinary journal**, v. 16, 1984. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.2042-3306.1984.tb01950.x>>.

KOTERBA, A.; WH, D.; PC, K. **Equine clinical neonatology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990.

LANG, A.; SOUZA, M. V. de; SAKCEDO, J. H. P.; SOSSAI, S.; ARAÚJO, R. R. de; LOURENÇO, G. G.; MAIA, L. Imunidade passiva em equinos: comparação entre a concentração de IgG do soro materno, colostro e soro do neonato. **Revista Ceres**, v. 54, p. 405–411, 2007.

LEWIS, L. D. **Nutrição clínica equina**. [s.l.: s.n.]

LIEPMAN, R. S.; DEMBEK, K. A.; SLOVIS, N. M.; REED, S. M.; TORIBIO, R. E. Validation of IgG cut-off values and their association with survival in neonatal foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 47, n. 5, p. 526–530, 2015.

LOPES, F.; PINTO, S.; PERRONE, T. FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR BETA (TGF- β) EM LEITE : UMA REVISÃO Transforming growth factor beta (TGF- β) in milk : a review. p. 226–238, 2016.

MAGNANI, M.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H. β -glucana from *Saccharomyces cerevisiae* : constitution , bioactivity and obtaining. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 631–650, 2008.

MARIO, G.; VMD, P.; PÉREZ, A.; CAVIGLIA, J.; CHIAPPE, A.; DVM, B. Journal of Equine Veterinary Science Effects of Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae* Strain 1026) Supplementation on the Closure of Articular Growth Plates in Quarter Horse Foals. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 4, p. 261–265, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2012.07.004>>.

MARKIEWICZ-KESZYCKA, M.; CZYZAK-RUNOWSKA, G.; WÓJTOWSKI, J.; JÓŹWIK, A.; PANKIEWICZ, R.; ŁESKA, B.; KRZYZEWSKI, J.; STRZAŁKOWSKA, N.; MARCHEWKA, J.; BAGNICKA, E. Influence of stage of lactation and year season on composition of mares' colostrum and milk and method and time of storage on vitamin C content in mares' milk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2279–2286, 2015.

MARKOWIAK, P.; ŚLIZEWSKA, K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. **Gut Pathogens**, v. 10, n. 1, p. 1–20, 2018.

MAŠEK, T.; MIKULEC, Ž.; VALPOTIĆ, H.; ANTUNAC, N.; MIKULEC, N. Influence of Live Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on Milk Production and Composition , and Blood Biochemistry of Grazing Dairy Ewes during the Milking Period The use of dietary yeast cultures as a mechanism for manipulating rumen fermentation h. **Acta Vet. BRNO**, v. 77, p. 547–554, 2008.

METZGER, N.; HINCHCLIFF, K. W.; HARDY, J.; SCHWARZWALD, C. C.; WITTUM, T. Usefulness of a commercial equine IgG test and serum protein concentration as indicators of failure of transfer of passive immunity in hospitalized foals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 2, p. 382–387, 2006.

MORGAN, L. M.; COVERDALE, J. A.; FROETSCHER, M. A.; YOON, I. Effect of Yeast Culture Supplementation on Digestibility of Varying Forage Quality in Mature Horses. v. 27, n. 6, p. 260–265, 2007.

MOTTA, R. G.; JUNIOR, G. N.; PERROTTI, I. B. M.; RIBEIRO, M. G. Mastite Infeciosa Equina : Uma Visão Geral Da Doença. p. 629–635, 2011.

NECHVATALOVA, K.; KUDLACKOVA, H.; LEVA, L.; BABICKOVA, K.; FALDYNA, M. Transfer of humoral and cell-mediated immunity via colostrum in pigs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 142, n. 1–2, p. 95–100, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.03.022>>.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Horse**. SIXTH REVI ed. [s.l: s.n.]

ODDY, W. H.; ROSALES, F. A systematic review of the importance of milk TGF- β on immunological outcomes in the infant and young child. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 21, n. 1 PART I, p. 47–59, 2010.

OELSCHLAEGGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions - A review. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, n. 1, p. 57–62, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.005>>.

PAGAN, J. D.; HINTIZ, H. . Composition of milk from pony mares fed various levels of digestible energy. **Cornell Vet**, v. 76, p. 139–148, 1986.

PECKA, E.; DOBRZAŃSKI, Z.; ZACHWIEJA, A.; SZULC, T.; CZYZ, K. Studies of composition and major protein level in milk and colostrum of mares. **Animal Science Journal**, v. 83, n. 2, p. 162–168, 2012.

PEREIRA, Y. de S. **DETERMINAÇÃO DO DIA DO PARTO DE ÉGUAS E RELAÇÃO MATERNO-FILIAL**. 2017. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Universidade de São Paulo, 2017.

PERKINS, G. A.; WAGNER, B. The development of equine immunity: Current knowledge on immunology in the young horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 47, n. 3, p. 267–274, 2015.

PETRELLI, M. S.; CAROLINA, A.; CORREA, R.; AMBROZIO, G. R.; YASODHARA, A.; HOGE, A.; MASSOCO, C. D. O.; OLIVEIRA, C. A. De. Artigo científico Perfil celular do colostro de éguas colhido imediatamente após o par- to Cell profile of mare colostrum taken immediately after delivery. v. 1, p. 66–72, 2014.

PORTO, A. C. R. C.; PETRELLI, M. S.; HOGE, A. Y. A.; AMBROZIO, G. R.; MASSOCO, C. O.; OLIVEIRA, C. A. Equine colostrum : more than IgG. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 1, p. 239, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2013.10.171>>.

POTOČNIK, K.; GANTNER, V. Mare ' s milk : composition and protein fraction in comparison with different milk species. v. 61, n. 2, p. 107–113, 2011.

PUSTERLA, N.; PUSTERLA, J. B.; SPIER, S. J.; PUGET, B.; WATSON, J. L. Evaluation of the SNAP Foal IgG test for the semiquantitative measurement of immunoglobulin G in foals. p. 1–3, 2002.

RAUTAVA, S.; KALLIOMÄKI, M.; ISOLAURI, E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 109, n. 1, p. 119–121, 2002.

REBER, A. J.; DONOVAN, D. C.; GABBARD, J.; GALLAND, K.; ACEVES-AVILA, M.; HOLBERT, K. A.; MARSHALL, L.; HURLEY, D. J. Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system. Part II. Effects on neonatal lymphocytes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 123, n. 3–4, p. 305–313, 2008.

REIS, A. de P.; MESQUITA, A. J. de; MOREIRA, C. H. G.; CURADO, E. A. F.; SILVA, E. B. da; NICOLAU, E. S. Composição do leite de éguas da raça Mangalarga Marchador Composition of Mangalarga Marchador mare milk. v. 66, n. 2, p. 130–135, 2007.

ROSSI, R. Mastitis: prevention and diagnosis. Somatic cells as important indicator. **Professione Allevatore**, v. 20, p. 26–9, 1993.

SANTIN, A. P. ESTUDO DA SECAGEM E DA INATIVAÇÃO DE LEVEDURAS *Saccharomyces cerevisiae*. 1996.

SANTOS, A. S.; SILVESTRE, A. M. A Study of Lusitano Mare Lactation Curve with Wood's Model. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 2, p. 760–766, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030208714206>>.

SANTOS, E. M.; ALMEIDA, F. Q. De; VIEIRA, A. A.; FERNANDO, L.; PINTO, B.; CORASSA, A.; RICARDO, R.; PIMENTEL, M.; SILVA, V. P. Lactação em Éguas da Raça Mangalarga Marchador : Produção e Composição do Leite e Ganho de Peso dos Potros Lactentes 1 Lactation in Mangalarga Marchador Mares : Yield production and Composition of Milk , and Weight Gain of Suckling Foals. p. 627–634, 2005.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. de M. Lactação em éguas Mare milk production. **Revista portuguesa de ciencias veterinárias**, v. 101, n. 31, p. 17–23, 2006.

SCHOSTER, A. Probiotic Use in Equine Gastrointestinal Disease. **Veterinary Clinics of NA: Equine Practice**, v. 34, n. 1, p. 13–24, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2017.11.004>>.

SCHOSTER, A.; GUARDABASSI, L.; STAEMPFLI, H. R.; ABRAHAMMS, M.; JALALI, M.; WEESE, J. S. The longitudinal effect of a multi-strain probiotic on the intestinal bacterial microbiota of neonatal foals. **Equine veterinary journal**, v. 48, n. 6, p. 689–696, 2016.

SCHOSTER, A.; WEESE, J. S.; GUARDABASSI, L. Probiotic Use in Horses - What is the Evidence for Their Clinical Efficacy? **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 6, p. 1640–1652, 2014.

SHARIF, A.; CHHALGARI, M. U.; SCIENCES, M.; MUHAMMAD, G. Mastitis Control in Dairy Production. n. September 2015, 2009.

SHARIF, M. R.; KASHANI, H. H.; ARDAKANI, A. T.; KHEIRKHAH, D.; TABATABAEI, F.; SHARIF, A. The Effect of a Yeast Probiotic on Acute Diarrhea in Children. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 8, n. 4, p. 211–214, 2016.

SHEORAN, A. S.; TIMONEY, J. F.; HOLMES, M. A.; KARZENSKI, S. S.; CRISMAN, M. V. Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses. **Am. J. Vet. Res.**, v. 61, p. 1099–1105, 2000.

SILVA, F. L. da. **Efeito do processamento na concentração do fator de crescimento TGF Beta em lácteos**. 2015. Universidade Federal de Viçosa, 2015.

SPEARMAN, K. R. **Effect of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on the immune status of mares and their foals**. 2004. University of Florida, 2004.

STELLA, A. V.; PARATTE, R.; VALNEGRI, L.; CIGALINO, G.; SONCINI, G.; CHEVAUX, E.; ORTO, V. D.; SAVOINI, G. Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk production , milk composition , blood metabolites , and faecal flora in early lactating dairy goats. **Small Ruminant Research**, v. 67, p. 7–13, 2007.

STRÖBEL, C.; GÜNTHER, E.; ROMANOWSKI, K.; BÜSING, K.; URUBSCHUROV, V.; ZEYNER, A. Effects of oral supplementation of probiotic strains of *Lactobacillus rhamnosus* and *Enterococcus faecium* on diarrhoea events of foals in their first weeks of life. n. April, p. 1357–1365, 2018.

TALLMADGE, R. L.; MCLAUGHLIN, K.; SECOR, E.; RUANO, D.; MATYCHAK, M. B.; FLAMINIO, M. J. B. F. Expression of essential B cell genes and immunoglobulin isotypes suggests active development and gene recombination during equine gestation. v. 33, p. 1027–1038, 2009.

TALLMADGE, R. L.; MILLER, S. C.; PARRY, S. A.; FELIPPE, M. J. B. Antigen-specific immunoglobulin variable region sequencing measures humoral immune response to vaccination in the equine neonate. p. 1–25, 2017.

TARAN, F. M. P.; GOBESSO, A. A. O.; GONZAGA, I. V. F.; FRANÇOSO, R.; CENTINI, T. N.; MOREIRA, C. G.; SILVA, L. F. P. Effects of different amounts of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on apparent digestibility and faecal parameters in horses fed high-roughage and high-concentrate diets. **Livestock Science**, v. 186, p. 29–33, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2015.11.023>>.

TIZARD, I. R. **IMUNOLOGIA VETERINÁRIA uma introdução**. oitava ed. [s.l: s.n.]

TSCHESCHLOK, L.; VENNER, M.; HOWARD, J. Comparison of IgG concentrations by radial immunodiffusion, electrophoretic gamma globulin concentrations and total globulins in neonatal foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 49, n. 2, p. 149–154, 2017.

TURNER, J. .; ARNS, M. J.; MINTON, J. E. Effects of Non-Specific Immunostimulation of Prepartum Mares on Colostral Quality and Foal Immune Function. **The Professional Animal Scientist**, v. 19, p. 62–67, 2003.

VERHASSELT, V.; MILCENT, V.; CAZARETH, J.; KANDA, A.; FLEURY, S.; DOMBROWICZ, D.; GLAICHENHAUS, N.; JULIA, V. Breast milk-mediated transfer of an antigen induces tolerance and protection from allergic asthma. **Nature Medicine**, v. 14, n. 2, p. 170–175, 2008.

WAGNER, B. Immunoglobulins and immunoglobulin genes of the horse. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 30, n. 1–2, p. 155–164, 2006.

WEESE, J. S.; ANDERSON, M. E. C.; LOWE, A.; PENNO, R.; COSTA, T. M. D. A.; BUTTON, L.; GOTH, K. C. Screening of the equine intestinal microflora for potential probiotic organisms. v. 36, p. 351–355, 2004.

WŁODARCZYK-SZYDŁOWSKA, A.; NOWACKI, W.; WIERZBICKI, H. Wpływ wybranych czynników na jakość siary klaczy i poziom immunoglobulin siarowych u źrebiąt. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 61, n. 8, p. 923–926, 2005.

YALÇIN, S.; YAÇIN, S.; CAN, P.; GURDAL, A. O.; BAGEN, C.; ELTAN, O. The Nutritive Value of Live Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and Its Effect on Milk Yield, Milk Composition and Some Blood Parameters of Dairy Cows. **The Asian-Australasian Association Of Animal Production Societies**, v. 24, p. 1377–1385, 2011.

ZANELLO, G.; MELO, S.; BERRI, M.; INCA, R. D.; AUCLAIR, E.; SALMON, H. Veterinary Immunology and Immunopathology Effects of dietary yeast strains on immunoglobulin in colostrum and milk of sows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 152, p. 20–27, 2013.

APÊNDICE A – Hemograma dos potros durante a fase experimental

	WBC (10 ⁹ /L)	Lymph# (10 ⁹ /L)	Mon# (10 ⁹ /L)	Gran# (10 ⁹ /L)	Lymph (%)	Mon (%)	Gran (%)	RBC (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ¹⁹ /L)
NN Honda														
0 horas	6.7	1.3	0.3	5.1	19.1	4.6	76.3	8.47	11.1	33.8	40.0	13.1	32.8	242
12 horas	7.0	1.0	0.3	5.7	14.3	4.6	81.1	9.11	11.7	37.8	41.5	12.8	30.9	243
24 horas	4.1	0.7	0.2	3.2	17.1	4.7	78.2	8.81	11.1	35.5	40.3	12.5	31.2	234
15 dias	7.6	1.1	0.3	6.2	14.3	4.7	81.0	7.53	9.2	25.2	33.5	12.2	36.5	289
45 dias	10.6	2.0	0.4	8.2	18.5	4.6	76.9	8.63	10.4	29.0	33.7	12.0	35.8	175
NN Atenas														
0 horas	4.8	2.0	0.2	2.6	42.1	4.5	53.4	11.10	16.5	47.9	43.2	14.8	34.4	208
12 horas	7.2	3.4	0.3	3.5	47.3	4.0	48.7	10.08	14.7	41.7	41.4	14.5	35.2	200
24 horas	6.3	2.4	0.3	3.6	38.6	4.2	57.2	10.83	15.9	45.5	42.1	14.6	34.9	162
15 dias	3.7	2.3	0.2	1.2	62.5	4.5	33.0	9.70	13.9	37.6	38.8	14.3	36.9	167
45 dias	8.3	4.0	0.3	4.0	47.8	4.6	47.6	6.99	8.8	24.3	34.9	12.5	36.2	125
NN Espoleta														
0 horas	3.6	1.0	0.2	2.4	27.4	4.6	68.0	8.08	13.3	41.5	51.4	16.4	32.0	494
12 horas	4.4	0.9	0.1	3.4	19.7	3.3	77.0	8.00	13.0	39.4	49.3	16.2	32.9	290
24 horas	5.1	1.7	0.2	3.2	32.5	4.4	63.1	8.00	13.2	39.4	49.3	16.5	33.5	276
15 dias	6.8	2.6	0.2	4.0	38.1	3.6	58.3	6.95	11.4	32.5	46.9	16.4	35.0	428
45 dias	7.8	4.0	0.2	3.6	50.8	2.7	46.5	8.00	11.9	34.2	42.8	14.8	34.7	376
NN Herança														
0 horas	3.1	1.4	0.1	1.6	45.2	4.4	50.4	11.06	15.6	44.9	40.6	14.1	34.7	234
12 horas	4.2	1.7	0.2	2.3	39.3	4.8	55.9	11.01	15.5	44.4	40.4	14.0	34.9	213
24 horas	3.3	1.6	0.1	1.6	49.9	2.8	47.3	11.02	14.9	43.7	39.7	13.5	34.0	235
15 dias	7.0	4.2	0.4	2.4	59.3	5.8	34.9	9.05	12.4	32.9	36.4	13.7	37.6	232
45 dias	8.2	3.1	0.4	4.7	37.6	4.8	57.6	9.49	11.7	31.6	33.3	12.3	37.0	157

Fonte: Bianconi, C. (2018)

WBC= células brancas (ou leucócitos); Lymph= Linfócitos; Mon= Monócitos; Gran= Granulócitos; RBC= Células Vermelhas (ou eritrócito); HGB= Concentração de Hemoglobina; HCT= Hematócrito; MCV= Volume Corpuscular Médio; MCH= Hemoglobina Globular Média; MCHC= Concentração de Hemoglobina Globular Média; PLT= Plaquetas

	WBC (10 ⁹ /L)	Lymph# (10 ⁹ /L)	Mon# (10 ⁹ /L)	Gran# (10 ⁹ /L)	Lymph (%)	Mon (%)	Gran (%)	RBC (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ¹⁹ /L)
NN Baroneza														
0 horas	6.3	1.8	0.4	4.1	27.9	6.3	65.8	9.57	14.4	43.3	45.3	15.0	33.2	214
12 horas	4.6	1.1	0.2	3.3	23.6	4.2	72.2	9.63	14.8	44.3	46.1	15.3	33.4	153
24 horas	3.0	1.0	0.2	1.8	34.3	5.4	60.3	9.35	14.4	41.5	44.4	15.4	34.6	163
15 dias	6.3	2.0	0.3	4.0	31.9	5.0	63.1	8.59	13.3	35.8	41.7	15.4	37.1	149
45 dias	5.6	2.7	0.2	2.7	47.5	3.8	48.7	8.93	12.3	34.3	38.5	13.7	35.8	111
NN Vedete														
0 horas	5.5	1.1	0.2	4.2	20.5	3.9	75.6	9.78	15.1	41.9	42.9	15.4	36.0	196
12 horas	6.9	1.9	0.3	4.7	27.6	4.6	67.8	9.44	14.1	40.3	42.7	14.9	34.9	176
24 horas	6.1	2.3	0.3	3.5	38.1	5.5	56.4	9.99	14.9	42.8	42.9	14.9	34.8	203
15 dias	12.1	2.1	0.5	9.5	17.5	3.8	78.7	9.06	12.5	35.6	39.4	13.7	35.1	224
45 dias	13.1	5.9	0.6	6.6	45.4	4.5	50.1	8.42	10.1	30.3	36.0	11.9	33.3	163
NN Bailarina														
0 horas	1.2	0.7	0.0	0.5	54.9	6.0	39.1	2.53	3.4	10.2	40.4	13.4	33.3	68
12 horas	7.0	2.0	0.2	4.8	28.0	4.0	68.0	10.33	14.6	43.5	42.2	14.1	33.5	220
24 horas	5.2	1.7	0.2	3.3	32.2	4.1	63.7	8.76	13.2	36.1	41.3	15.0	36.5	141
15 dias	10.9	3.1	0.7	7.1	28.4	6.2	65.4	6.76	8.9	26.2	38.8	13.1	33.9	98
45 dias	6.8	2.4	0.3	4.1	35.9	4.5	59.6	7.60	9.6	25.9	34.1	12.6	37.0	54
NN Esmeralda														
0 horas	5.9	1.3	0.4	4.2	22.5	6.5	71.0	9.77	14.1	43.7	44.8	14.4	32.2	262
12 horas	10.6	1.7	0.6	8.3	16.0	5.5	78.5	9.01	13.2	40.1	44.6	14.6	32.9	176
24 horas	9.2	1.7	0.3	7.2	18.7	3.3	78.0	8.20	12.0	35.9	43.8	14.6	33.4	234
15 dias	6.8	1.8	0.3	4.7	26.9	4.1	69.0	7.87	10.8	31.9	40.6	13.7	33.8	126
45 dias	11.9	2.3	0.4	9.2	19.6	3.4	77.0	6.52	8.6	24.0	36.9	13.1	35.8	178

Fonte: Bianconi, C. (2018)

WBC= células brancas (ou leucócitos); Lymph= Linfócitos; Mon= Monócitos; Gran= Granulócitos; RBC= Células Vermelhas (ou eritrócito); HGB= Concentração de Hemoglobina; HCT= Hematócrito; MCV= Volume Corpuscular Médio; MCH= Hemoglobina Globular Média; MCHC= Concentração de Hemoglobina Globular Média; PLT= Plaquetas

	WBC (10 ⁹ /L)	Lymph# (10 ⁹ /L)	Mon# (10 ⁹ /L)	Gran# (10 ⁹ /L)	Lymph (%)	Mon (%)	Gran (%)	RBC (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ¹⁹ /L)
NN Ciranda														
0 horas	5.8	1.6	0.2	4.0	28.0	3.6	68.4	9.23	14.1	42.1	45.7	15.2	33.4	323
12 horas	9.1	2.1	0.3	6.7	23.1	3.5	73.4	9.39	14.1	41.7	44.5	15.0	33.8	277
24 horas	8.0	1.8	0.3	5.9	22.5	4.3	73.2	9.74	14.4	43.7	44.9	14.7	32.9	251
NN Xilena														
0 horas	8.9	0.1	0.4	8.4	0.9	4.3	94.8	9.13	11.9	39.8	43.6	13.0	29.8	256
12 horas	12.8	0.0	0.2	12.6	0.1	1.4	98.5	8.62	11.2	36.2	42.1	12.9	30.9	210
24 horas	11.4	1.2	0.9	9.3	10.7	7.6	81.7	8.87	12.0	38.8	43.8	13.5	30.9	244
15 dias	10.4	2.4	0.5	7.5	23.0	4.7	72.3	7.80	10.7	31.7	40.7	13.7	33.7	197
45 dias	12.2	2.9	0.5	8.8	24.1	4.5	71.4	7.72	10.4	28.4	36.9	13.4	36.6	214
NN Xonada														
0 horas	9.1	2.3	0.5	6.3	25.5	5.2	69.3	10.56	15.0	43.2	41.0	14.2	34.7	195
12 horas	10.9	4.8	0.8	5.3	43.9	7.7	48.4	9.12	12.6	38.2	41.9	13.8	32.9	120
15 dias	12.8	2.1	0.4	10.3	16.1	3.8	80.1	7.91	10.6	28.4	36.0	13.4	37.3	96
45 dias	10.8	4.1	0.7	6.0	37.7	6.4	55.9	8.90	11.4	32.1	36.1	12.8	35.5	51
NN Elegância														
0 horas	6.1	1.0	0.3	4.8	16.4	4.8	78.8	7.55	10.3	32.9	43.6	13.6	31.3	311
12 horas	6.5	1.6	0.2	4.7	24.8	3.3	71.9	7.96	11.5	34.3	43.2	14.4	33.5	341
24 horas	7.9	2.6	0.2	5.1	32.7	3.2	64.1	9.05	13.5	39.0	43.2	14.9	34.6	185
15 dias	9.3	2.4	0.4	6.5	26.1	4.5	69.4	8.26	12.3	34.1	41.3	14.8	36.0	285
45 dias	8.3	3.7	0.3	4.3	45.1	4.0	50.9	10.44	13.5	39.6	38.0	12.9	34.0	382

Fonte: Bianconi, C. (2018)

WBC= células brancas (ou leucócitos); Lymph= Linfócitos; Mon= Monócitos; Gran= Granulócitos; RBC= Células Vermelhas (ou eritrócito); HGB= Concentração de Hemoglobina; HCT= Hematócrito; MCV= Volume Corpuscular Médio; MCH= Hemoglobina Globular Média; MCHC= Concentração de Hemoglobina Globular Média; PLT= Plaquetas

	WBC (10 ⁹ /L)	Lymph# (10 ⁹ /L)	Mon# (10 ⁹ /L)	Gran# (10 ⁹ /L)	Lymph (%)	Mon (%)	Gran (%)	RBC (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ¹⁹ /L)
NN Utopia														
0 horas	9.2	1.7	0.4	7.1	18.7	4.1	77.2	10.87	15.0	42.7	39.3	13.7	35.1	161
12 horas	6.3	1.6	0.2	4.5	24.7	3.8	71.5	9.44	13.1	36.0	38.2	13.8	36.3	170
24 horas	6.3	1.6	0.3	4.4	25.7	5.0	69.3	8.76	11.4	33.9	38.8	13.0	33.6	124
15 dias	14.3	1.7	0.4	12.2	11.7	3.3	85.0	7.28	9.5	25.6	35.3	13.0	37.1	136
45 dias	3.6	1.9	0.3	1.4	52.9	7.0	40.1	9.12	10.9	30.1	33.1	11.9	36.2	97
NN Garota														
0 horas	4.1	1.2	0.3	2.6	29.3	6.6	64.1	9.52	14.8	45.7	48.1	15.5	32.3	209
24 horas	3.1	1.1	0.2	1.8	34.6	6.0	59.4	8.74	13.8	40.8	46.7	15.7	33.8	110
15 dias	6.3	2.4	0.3	3.6	37.6	4.8	57.6	4.94	7.3	19.8	40.1	14.7	36.8	136
45 dias	8.1	2.5	0.5	5.1	31.4	5.6	63.0	7.81	10.6	29.2	37.5	13.5	36.3	97
NN Zafira														
0 horas	4.5	1.8	0.3	2.4	39.4	6.3	54.3	9.57	13.8	44.1	46.1	14.4	31.2	159
12 horas	5.0	2.1	0.3	2.6	42.2	6.3	51.5	9.59	14.0	41.8	43.6	14.5	33.4	153
15 dias	9.5	1.6	0.3	7.6	16.4	4.0	79.6	7.49	10.4	28.9	38.6	13.8	35.9	165
NN Vitrola														
0 horas	3.6	0.8	0.2	2.6	22.6	5.3	72.1	10.59	15.6	47.5	44.9	14.7	32.8	331
12 horas	6.3	1.1	0.3	4.9	17.3	4.6	78.1	10.20	14.9	45.4	44.6	14.6	32.8	204
24 horas	5.1	1.0	0.2	3.9	19.6	4.3	76.1	9.87	14.2	43.5	44.1	14.3	32.6	228
15 dias	7.9	2.5	0.3	5.1	32.1	4.3	63.6	9.20	13.1	37.4	40.7	14.2	35.0	358
45 dias	5.9	3.2	0.2	2.5	54.4	3.2	42.4	9.41	12.2	34.0	36.2	12.9	35.8	224
NN Zuca														
0 horas	4.4	1.8	0.2	2.4	41.3	5.1	53.6	10.27	14.6	44.7	43.6	14.2	32.6	187
24 horas	6.1	1.5	0.2	4.4	24.0	3.7	72.3	9.65	13.7	40.6	42.1	14.1	33.7	117
15 dias	7.8	1.6	0.3	5.9	20.6	3.5	75.9	9.21	12.6	37.7	41.0	13.6	33.4	180

Fonte: Bianconi, C. (2018)

WBC= células brancas (ou leucócitos); Lymph= Linfócitos; Mon= Monócitos; Gran= Granulócitos; RBC= Células Vermelhas (ou eritrócito); HGB= Concentração de Hemoglobina; HCT= Hematócrito; MCV= Volume Corpuscular Médio; MCH= Hemoglobina Globular Média; MCHC= Concentração de Hemoglobina Globular Média; PLT= Plaquetas

APÊNDICE B – Hemogramas das éguas no início da suplementação

Animal	WBC (10 ⁹ /L)	Lymph# (10 ⁹ /L)	Mon# (10 ⁹ /L)	Gran# (10 ⁹ /L)	Lymph (%)	Mon (%)	Gran (%)	RBC (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10 ¹⁹ /L)
Honda	13.0	3.1	0.7	9.2	23.8	5.5	70.7	9.27	15.8	47.5	51.3	17.0	33.2	182
Atenas	8.0	2.2	0.5	5.3	27.4	5.8	66.8	7.42	12.8	38.2	51.6	17.2	33.5	285
Espoleta	9.0	2.4	0.6	6.0	27.1	6.2	66.7	8.85	15.8	47.0	53.2	17.8	33.6	228
Herança	5.7	3.0	0.3	2.4	53.0	5.0	42.0	15.94	28.1	79.0	49.6	17.6	35.5	150
Baroneza	8.1	1.4	0.5	6.2	17.2	5.7	77.1	7.82	14.0	42.1	53.9	17.9	33.2	212
Vedete	7.5	2.2	0.5	4.8	29.5	6.5	64.0	8.43	14.3	43.6	51.8	16.9	32.7	244
Bailarina	8.0	2.8	0.4	4.8	34.4	5.8	59.8	7.28	10.8	35.1	48.3	14.8	30.7	243
Esmeralda	8.4	1.9	0.5	6.0	23.1	6.1	70.8	7.75	12.6	40.6	52.5	16.2	31.0	251
Ciranda	6.3	2.7	0.4	3.2	43.4	6.1	50.5	7.23	12.1	35	48.5	16.7	34.5	181
Xilena	6.1	2.4	0.5	3.2	39.7	7.5	52.8	6.19	11	33.6	54.4	17.7	32.7	111
Xonada	6.3	2.0	0.3	4.0	31.4	4.5	64.1	6.40	12.0	36.6	57.3	18.7	32.7	93
Elegância	7.8	4.4	0.5	2.9	56.2	6.7	37.1	6.87	11.4	32.4	47.3	16.5	35.1	183
Utopia	6.3	1.5	0.3	4.5	24.0	4.4	71.6	5.91	11.2	34.3	58.2	18.9	32.6	140
Garota	6.8	2.5	0.3	4.0	36.1	5.7	58.2	6.73	11.8	35.6	53	17.5	33.1	206
Zafira	5.7	2.2	0.4	3.1	39.0	6.6	54.4	6.42	10.7	31.8	49.6	16.6	33.6	106
Vitrola	5.5	1.7	0.3	3.5	30.4	5.5	64.1	7.16	11.1	34.0	47.6	15.5	32.6	132
Zuca	5.9	2.3	0.3	3.3	38.2	5.3	56.5	7.51	11.5	33.7	44.9	15.3	34.1	143

Fonte: Bianconi, C. (2018)

WBC= células brancas (ou leucócitos); Lymph= Linfócitos; Mon= Monócitos; Gran= Granulócitos; RBC= Células Vermelhas (ou eritrócito); HGB= Concentração de Hemoglobina; HCT= Hematócrito; MCV= Volume Corpuscular Médio; MCH= Hemoglobina Globular Média; MCHC= Concentração de Hemoglobina Globular Média; PLT= Plaquetas

APÊNCIE C – Relação Neutrófilo/Linfócito dos potros

	Relação
NN Atenas	
Parto	7.25
12 horas pós-parto	4.22
24 horas pós-parto	6.23
NN Bailarina	
Parto	-
12 horas pós-parto	4.82
24 horas pós-parto	9.89
NN Baroneza	
Parto	3.26
12 horas pós-parto	3.80
24 horas pós-parto	4.59
NN Ciranda	
Parto	3.41
12 horas pós-parto	6.00
24 horas pós-parto	6.46
NN Elegância	
Parto	3.71
12 horas pós-parto	4.53
24 horas pós-parto	3.52
NN Esmeralda	
Parto	2.70
12 horas pós-parto	11.00
24 horas pós-parto	4.53

	Relação
NN Espoleta	
Parto	5.40
12 horas pós-parto	3.95
24 horas pós-parto	4.59
NN Garota	
Parto	4.11
12 horas pós-parto	7.08
24 horas pós-parto	3.26
NN Herança	
Parto	3.45
12 horas pós-parto	4.50
24 horas pós-parto	5.33
NN Honda	
Parto	4.33
12 horas pós-parto	12.57
24 horas pós-parto	9.89
NN Utopia	
Parto	2.56
12 horas pós-parto	4.56
24 horas pós-parto	5.20
NN Vedete	
Parto	-
12 horas pós-parto	7.17
24 horas pós-parto	6.38

	Relação
NN Vitrola	
Parto	3.48
12 horas pós-parto	8.70
24 horas pós-parto	6.00
NN Xilena	
Parto	4.44
12 horas pós-parto	6.46
24 horas pós-parto	8.80
NN Xonada	
Parto	4.44
12 horas pós-parto	7.08
24 horas pós-parto	4.11
NN Zafira	
Parto	3.08
12 horas pós-parto	4.16
24 horas pós-parto	-
NN Zuca	
Parto	4.44
12 horas pós-parto	6.33
24 horas pós-parto	6.17