A faint, artistic background image of a goat's head, showing its large, curved horns and facial features in a soft, painterly style.

FERNANDA CAVALLINI CYRILLO

Atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos,
induzida por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* "in vitro":
Influência etária e do manejo colostrar

São Paulo
2011

FERNANDA CAVALLINI CYRILLO

**Atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos, induzida por
Escherichia coli e *Staphylococcus aureus* “in vitro”: influência etária e do manejo
colostral**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de Concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Fernando José Benesi

São Paulo

2011

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

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP

712/11

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

2428
FMVZ

Cyrillo, Fernanda Cavallini

Atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos, induzida por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* "in vitro": influência etária e do manejo colostrar / Fernanda Cavallini Cyrillo. -- 2011.

167 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2011.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Fernando José Benesi.

1. Cabritos. 2. Colostro. 3. Metabolismo oxidativo. 4. Fagocitose. 5. Citometria de fluxo. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação da atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos *"in vitro"* para *E. coli* e *S. aureus* - influência etária e de diferentes tipos de manejo colostrar", protocolado sob o nº1554/2008, utilizando 32 (trinta e dois) cabras, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fernando José Benesi, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Evaluation of the functional activity of polymorphonuclear in the blood of newborn kids, *"in vitro"* for *E. coli* and *S. aureus* - age influence and different types of handling colostrum", protocol number 1554/2008, utilizing 32 (thirty two) goats, under the responsibility Prof. Dr. Fernando José Benesi, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum" meeting).

São Paulo, 22 de dezembro de 2008

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CYRILLO, Fernanda Cavallini

Título: Atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos, induzida por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* “in vitro”: influência etária e do manejo colostrar

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Aos meus queridos e amados pais,

Francisco e Denise

Durante minha jornada vocês foram à base para o meu crescimento, acreditando sempre na minha capacidade e investindo no meu futuro.

Acompanharam de perto o quanto a realização desta pesquisa exigia compromisso e dedicação. Quantas vezes não pude almoçar em família!!!

Muitas vezes sem compreender a carga de trabalho continuaram a me apoiar e incentivar, para que eu não desanimasse.

Se não bastasse além de todo suporte financeiro, emocional e afetivo, ainda me apoiaram e auxiliaram na finalização dessa tese. Se hoje ela está finalizada uma parte se deve ao amor que nos une.

Tenho muito orgulho de ser filha de vocês!!!!

Muito obrigada!!!!

DEDICATÓRIAS

Ao meu Irmão, Luciano, à minha cunhada, Juliana e ao meu sobrinho Lucas por fazerem parte da minha vida.

À Adriana e à Dudinha anjos que existem na minha vida.

Ao meu tio Denis pelo apoio e pela arte da capa.

A toda minha família que sempre torceu pelo êxito deste experimento.

Amo todos vocês!

Aos Cabritos e Cabras

Que involuntariamente dedicaram parte de suas vidas a esta pesquisa. E que me transmitiram tantos conhecimentos, momentos de alegria, tristezas e de descontração. Só tenho a agradecer!

<i>Feliciano</i>	<i>Leandra</i>	<i>Danúbia</i>	<i>Clotilde</i>	<i>Boralice</i>
<i>Rose</i>	<i>Lílian</i>	<i>Duda</i>	<i>Carol</i>	
<i>Fernanda</i>	<i>FêII</i>	<i>Maria</i>	<i>Raque</i>	<i>Vitor</i>
<i>Sebastiana</i>	<i>Villy</i>	<i>Rick</i>	<i>Leo</i>	
<i>Leandro</i>	<i>Flor</i>	<i>Priscisca</i>	<i>Esperança</i>	<i>Vinicius</i>
<i>Branquinho</i>	<i>Shrek</i>	<i>Tom</i>	<i>Max</i>	
<i>Mano</i>	<i>Flavio</i>	<i>Ale</i>	<i>Estrela</i>	<i>Tavinho</i>
<i>Guto</i>	<i>Beto</i>	<i>Dona Lucy</i>	<i>Dona Denise</i>	
<i>Adriana</i>	<i>Nino</i>	<i>Margarida</i>	<i>Hugo</i>	<i>Violeta</i>
<i>Edu</i>	<i>Bruna</i>	<i>Mariano</i>	<i>Trunfo</i>	
<i>Renata</i>	<i>Rita</i>	<i>Clara</i>	<i>Iris</i>	<i>Lívio</i>
<i>Huber</i>	<i>Fernandinho</i>	<i>Chiquinho</i>	<i>Guga</i>	
<i>Ralf</i>	<i>Rosa</i>	<i>Sissi</i>	<i>Muito obrigada!!!</i>	

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Fernando José Benesi, pela orientação, confiança e amizade ao longo deste estudo. Muito obrigada!;

Ao Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Júnior, pelo apoio durante a fase experimental, e sugestões na minha qualificação, sempre preocupado com o andamento desta pesquisa. Muito obrigada!;

Aos professores do Departamento de Patologia, em especial ao Prof. Dr. João Palermo Neto, Profa. Dra. Helenice de Souza Spinosa e Prof. Dr. Luis Carlos Sá Rocha, que me receberam em seu laboratório de Farmacologia para a realização deste experimento;

Ao professor do Departamento de Anatomia, prof. Dr. José Roberto Kfoury Júnior por ceder seu laboratório para que eu pudesse dar andamento em parte desta pesquisa;

Aos professores do Departamento de Clínica Médica, pela boa convivência e ensinamentos;

Ao professor Guilherme de Paula Nogueira da Universidade Paulista, Campus de Araçatuba, pela dosagem do cortisol dos animais utilizados nesta pesquisa. Obrigada!

À profa. Elizabeth Bohland pela participação e sugestões no trabalho apresentado na qualificação; apoio, incentivo e seu olhar crítico foi fundamental para a concretização deste trabalho; muito obrigada!

Ao Denis e Sr. Roberto, donos do Capril Chamonix (Marambaia), pelo empréstimo dos animais utilizados neste experimento, sem a colaboração deles não seria possível a finalização desta tese. Muito obrigada!

Aos funcionários do Capril Chamonix (Marambaia) Dona Eva e Sr. Claudinho por me ajudarem incondicionalmente para a concretização deste trabalho. Muito obrigada!

Ao capril Recantinho que me forneceu o sangue e o leite que foram utilizados nos recém nascidos. Muito obrigada!

Ao Sr. Vicente, dono do capril São Paulo, que disponibilizou grande parte do colostro utilizado nesta pesquisa. Obrigada!

À médica veterinária Fernanda Brasil, que gentilmente me forneceu o colostro de vaca utilizado neste trabalho, muito obrigada!

Agradeço aos funcionários da manutenção da FMVZ/USP que sempre me atenderam prontamente “quebrando alguns galhos” no galpão experimental, para que eu tivesse condições de abrigar e acondicionar os neonatos de uma forma melhor;

À amiga Mônica que foi uma fofa e à amiga Andréa que me auxiliaram na minha jornada pela citometria, sem elas não conseguiria iniciar este projeto e fazê-lo chegar ao fim. Muito obrigada!

Ao amigo Fernando Nogueira, que no início desta jornada me socorreu em momentos que estava desesperada. Muito obrigada!

À amiga Raquel pelo convívio, amizade incondicional e pela ajuda neste trabalho. Obrigada!

À Gabriela, pela amizade, convívio e ajuda nos cuidados como os cabritinhos durante todo período experimental. Obrigada!

À amiga Melina, pelo convívio, amizade, apoio e pela tradução do meu resumo. Obrigada!

Às minhas amigas de longa data, Tatiana, Lilian, Lygia, Denise, Vanessa e Ana Helena pela amizade e compreensão da minha ausência nesta fase da minha vida.

Aos residentes de 2008, Camila, Juliana e Laura por sempre colaborarem auxiliando nos partos das cabras utilizadas nesta pesquisa;

Aos residentes de 2009, Fernanda, Bruna e Paulão pela ajuda prestada em todos os momentos;

Aos colegas de pós-graduação do Departamento de Patologia (VPT): pela amizade, convívio e por me acolherem em seu laboratório, para que eu pudesse executar minhas análises laboratoriais. Muito obrigada!

Às colegas de pós-graduação do Departamento de Anatomia, Janaina, Rose e Ana Rita por receberem-me seu laboratório no momento em que eu não tinha a onde analisar as minhas amostras. Obrigada!

Aos colegas de pós-graduação do Departamento de Clínica Médica (VCM): Fábio, Bruno, Carolina, Humberto, Melinda, Bárbara, Rogério, João Ari, Milton Ricardo, Frederico, Leonardo, Enoch, Marjorie, Huber, Cynthia e Daniela, pela boa convivência e amizade;

Aos técnicos do laboratório de Farmacologia- VPT, Priscila, Magali e Ricardo por sempre me auxiliarem quando foi necessário. Obrigada!

À Marly, pela ajuda nas análises laboratórios;

À Clara pela ótima convivência, amizade e auxílio nos laboratórios. Muito obrigado!

À Claudia pela ajuda com a preparação das bactérias e nos testes de ELISA. Obrigada!

À Malu e Maria Helena por tirarem algumas dúvidas quanto à parte de hematologia;

À Adelaide, Cida e Silvana, pelo ótimo convívio e auxílios prestados;

À Eliana Roxo por sua amizade e ajuda em momentos inesperados;

Aos funcionários do Serviço de Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes do Hospital Veterinário da FMVZ- USP pelo apoio;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização desta pesquisa;

À FAPESP pelo auxílio concedido a esta pesquisa (2009/00990-5).

A CAPES pelo fornecimento da bolsa.

*“golpe a golpe, passo a passo,
caminhante, não a caminho,
o caminho é feito ao andar.
Andando, se faz o caminho
e se você olhar para trás
tudo que verá são as marcas
de passos que algum dia
seus pés tornarão a percorrer.
Caminhante, não há caminho,
o caminho é feito ao andar.”*

Maktub

P. coelho

RESUMO

CYRILLO, F. C. **Atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos, induzida por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* “in vitro”: influência etária e do manejo colostrar.** [Functional activity of polymorphonuclear cells from the blood of goats neonates induced by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* “in vitro”: influence of age and colostrum management]. 2011. 167f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade funcional dos polimorfonucleares (PMNs) do sangue de cabritos neonatos “in vitro”- metabolismo oxidativo e a fagocitose induzidos por *S.aureus* e *E.coli*, por meio da citometria de fluxo. Foram utilizados 32 cabritos da raça Saanen, acompanhados quanto ao estado de saúde do nascimento até os 15 dias de idade, distribuídos em quatro grupos: G1- colostro de cabra “in natura”; G2- colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos; G3- colostro de vaca “in natura” e G4 - leite de cabra; sendo avaliados nos seguintes tempos: t0 (antes da ingestão do colostro); t1 (24-48h p.n.); t2 (72-96h p.n); t3 (168-192h p.n) e t4 (336-360h p.n). A avaliação estatística foi realizada pela análise de variância (ANOVA) para a comparação entre os grupos e intragrupos para amostras de pequeno tamanho, de acordo com as variáveis do estudo, com nível de significância de 5%. O metabolismo oxidativo basal não diferiu nos grupos e com a idade. O metabolismo oxidativo aumentou com o estímulo por *S. aureus* após a ingestão de colostro tratado pelo calor (G2), não apresentando diferenças nos demais grupos. O estímulo com *E. coli* o aumentou após a ingestão de colostro tratado (G2) e após a ingestão de leite de cabra (G4) a partir de t3, não diferindo nos grupos que receberam colostro de cabra e vaca “in natura” (G1 e G3 respectivamente). A comparação entre metabolismo oxidativo basal e induzido para o *S. aureus* foi maior antes e após a mamada do colostro nos grupos colostro de cabra “in natura” e sem colostro (G1 e G4); e, após a ingestão do colostro nos grupos que o receberam tratado pelo calor e de vaca respectivamente (G2 e G3). Para a *E. coli* a resposta foi maior após a ingestão de colostro tratado pelo calor (G2); antes e após a mamada de colostro de vaca (G3) ou leite (G4); não houve diferença entre o metabolismo basal e induzido para a *E. coli* no grupo que recebeu colostro de cabra “in natura” (G1). A fagocitose induzida pelo *S.aureus* não diferiu em nenhum dos grupos; o percentual de fagocitose aumentou após a ingestão de colostro de cabra “in natura” (G1) no momento t1. A fagocitose induzida pela *E.coli* foi maior após a ingestão de colostro de cabra nos dois grupos. O percentual de fagocitose foi maior

após a ingestão do colostro tratado pelo calor e não diferiu nos demais grupos. Os resultados permitiram concluir que a ingestão do colostro não interferiu no metabolismo oxidativo basal; o desencadeamento da explosão respiratória de PMNs induzido pelas bactérias foi maior após a ingestão de colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos; houve indícios de aumento da fagocitose para *S. aureus* e um aumento da intensidade de fluorescência e do percentual de fagocitose para *E.coli* nos grupos que receberam colostro de cabra (G1 e G2); não ficou esclarecida a influência da idade na atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”; os resultados do presente estudo subsidiam propostas de melhoria do manejo da produção caprina baseada na utilização de colostro de cabra tratado pelo calor.

Palavras – chave: Cabritos. Colostro. Metabolismo oxidativo. Fagocitose. Citometria de fluxo.

ABSTRACT

CYRILLO, F. C. **Functional activity of polymorphonuclear cells from the blood of goats neonates induced by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* “in vitro”: influence of age and colostrum management.** [Atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos, induzida por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* “in vitro”: influência etária e do manejo colostrálico]. 2011. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

The aim of this study was to evaluate “in vitro” functional activities of neonates goats blood polymorphonuclear leukocytes (PMNs) – respiratory burst and phagocytosis induced by *S. aureus* and *E. coli*, by flow cytometry. We used 32 Saanen goats, accompanied on the health status from birth to 15 days of age divided into four groups: G1-goat colostrum "in nature"; G2- goat colostrum heated to 56 ° C for 60 minutes; G3-cow colostrum "in nature" and G4 - goat milk, being evaluated at the following times: t0 (before intake of colostrum), t1 (24-48h after birth), t2 (72-96h a.b), t3 (168-192h a.b), t4 (336-360h a.b). Statistical analysis was performed by analysis of variance (ANOVA) for comparison between groups and within groups for samples of small size, according to the study variables, with 5% of significance. The respiratory burst did not differ in basal and age groups. The stimulation of respiratory burst in *S. aureus* increased significantly after ingestion of colostrum treated by heat (G2) and it was not different in the other groups. Stimulation with *E. coli* increased after colostrum treated by heat intake (G2) and after ingestion of goat's milk (G4) from t3; no difference in the groups that received colostrum from goats and cows "in nature" (G1 and G3 respectively). The comparison of basal and induced respiratory burst for *S. aureus* was higher before and after the intake of colostrum or goat milk in the groups colostrum "in nature" and without colostrum (G1 and G4) and, after ingestion of colostrum in the groups treated with heat and bovine colostrum, respectively (G2 and G3). For *E. coli*, response was higher after ingestion of colostrum treated by heat (G2), before and after feeding cow colostrum (G3) or goat milk (G4), there was no difference between basal metabolism and induced to *E. coli* in the group that received goat colostrum "in nature" (G1). Phagocytosis induced by *S. aureus* did not differ in any group, the percentage of phagocytosis increased after ingestion of goat colostrum "in nature" (G1) at time t1. Phagocytosis induced by *E. coli* was increased after colostrum intake in both groups that received goat colostrum. The percentage of phagocytosis was increased after ingestion of colostrum but it did not differ in treated and other groups. The

results showed that ingestion of colostrum did not affect the basal respiratory burst; triggering the respiratory burst of PMNs induced by bacteria was greater after eating goat colostrum heated to 56 ° C for 60 minutes, there was evidence of increased phagocytosis of *S. aureus* and there was an increase in fluorescence intensity and percentage of phagocytosis of *E.coli* in the groups receiving goat colostrum (G1 and G2); it was not clarified the influence of age on functional activity of PMNs from the blood of goats neonates “in vitro”; and the results of this study subsidize proposals for improving the management of goat production based on the use of goats colostrum treated by heat.

Key words: Newborn. Colostrums. Oxidative metabolism. Phagocytosis. Flow cytometry.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Critérios para a avaliação do estado geral (grau de depressão clínica), estado de hidratação e características das fezes (escore fecal), adaptado de Walker et al. (1998) - São Paulo – 2008 a 2009.....	60
Quadro 2	Exemplo da preparação de uma bateria de tubos utilizados para avaliar a atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos “in vitro” - São Paulo - 2008 a 2009.....	66

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Valores médios da temperatura corporal (°C) de cabritos recém nascidos, segundo o tipo de colostro e leite ingerido (colostro de cabra “in natura”- G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” – G3 ou somente leite – G4) e a evolução da idade – São Paulo –2008 a 2009.....	74
Gráfico 2 -	Valores médios da frequência de batimentos cardíacos por minuto (bpm) de cabritos recém nascidos, segundo o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura”- G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” – G3 ou somente leite – G4) e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	75
Gráfico 3 -	Valores médios da frequência de movimentos respiratórios por minuto (mpm) de cabritos recém nascidos, segundo o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura”- G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura”– G3 ou somente leite – G4) e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	76
Gráfico 4 -	Histograma mostrando a produção média espontânea de H ₂ O ₂ - (DCFH), medida pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	80
Gráfico 5 -	Histograma mostrando os valores médios do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”, incubados com DCFH e <i>S. aureus</i> marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009....	80
Gráfico 6 -	Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, incubados com DCFH e <i>E. coli</i> marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	81

Gráfico 7 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por <i>S. aureus</i> marcado com PI (DCFH + <i>S. aureus</i>), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009 (*p< 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal).....	81
Gráfico 8 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado com <i>E. coli</i> marcada com PI (DCFH + <i>E. coli</i>), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	82
Gráfico 9 -	Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por <i>S. aureus</i> marcado com PI, de cabritos que ingeriram colostro de cabra “in natura” – G1 e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009.....	85
Gráfico 10 -	Percentual de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulado por <i>S. aureus</i> marcado com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra “in natura” – G1 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009.....	85
Gráfico 11 -	Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI, de cabritos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1 e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009.....	86
Gráfico 12 -	Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra “in natura” – G1 (t1 a t4) e a evolução da idade- São Paulo - 2008 a 2009.....	86

Gráfico 13 -	Histograma mostrando a produção espontânea de H ₂ O ₂ (DCFH), medida pela média geométrica da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, e a evolução da idade – São Paulo - 2008 a 2009.....	89
Gráfico 14 -	Histograma mostrando os valores médios do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, incubados com DCFH e <i>S. aureus</i> marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	89
Gráfico 15 -	Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, incubados com DCFH e <i>E. coli</i> marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo - 2008 a 2009.....	90
Gráfico 16 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por <i>S. aureus</i> marcado com PI (DCFH + <i>S. aureus</i>), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009 (*p< 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal).....	90
Gráfico 17 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por <i>E. coli</i> marcada com PI (DCFH + <i>E. coli</i>), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos, segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009 (*p< 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal).....	91
Gráfico 18 -	Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por <i>S. aureus</i> marcado com PI, de cabritos que ingeriram colostro aquecido a 56°C por 60 minutos – G2 e a evolução da idade –São Paulo- 2008 a 2009.....	93

Gráfico 19 -	Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por <i>S. aureus</i> marcado com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos – G2 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009.....	93
Gráfico 20 -	Fagocitose de leucócitos PMNs, estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI, medida pela intensidade de fluorescência de cabritos que ingeriram colostro aquecido a 56°C por 60 minutos – G2 e a evolução da idade – São Paulo- 2008 a 2009.....	94
Gráfico 21 -	Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos – G2 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009.....	94
Gráfico 22 -	Produção média espontânea de H2O2- (DCFH), medida pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura”- G3, conforme a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	97
Gráfico 23 -	Histograma mostrando os valores médios e desvios –padrão do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “ in natura”- G3, incubados com DCFH e <i>S. aureus</i> marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	97
Gráfico 24 -	Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura”- G3, incubados com DCFH e <i>E. coli</i> marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	98

Gráfico 25 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por <i>S. aureus</i> marcado com PI (DCFH + <i>S. aureus</i>), medidos pela intensidade de fluorescência em animais que ingeriram colostro de vaca “in natura” - G3 segundo a idade –São Paulo- 2008 a 2009 (*p< 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal)...	98
Gráfico 26 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI (DCFH + <i>E. coli</i>), medidos pela intensidade de fluorescência em animais que ingeriram colostro de vaca “in natura”– G3 segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009 (*p< 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal).....	99
Gráfico 27 -	Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por <i>S. aureus</i> marcada com PI, de cabritos que ingeriram colostro de vaca - G3 e a evolução da idade - São Paulo- 2008 a 2009.....	101
Gráfico 28 -	Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por <i>S. aureus</i> marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de vaca (t1 a t4) e a evolução da idade- São Paulo- 2008 a 2009.....	101
Gráfico 29 -	Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI de cabritos que ingeriram colostro de vaca “in natura”– G3 e a evolução da idade- São Paulo – 2008 a 2009.....	102
Gráfico 30 -	Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de vaca “in natura” – G3 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009.....	102
Gráfico 31 -	Histograma mostrando a produção média espontânea de H2O2- (DCFH), medida pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite - G4, conforme a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	105

Gráfico 32 -	Histograma mostrando os valores médios do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4, incubados com DCFH e <i>S. aureus</i> marcados com PI e conforme a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	105
Gráfico 33 -	Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4, incubados com DCFH e <i>E. coli</i> marcada com PI, e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	106
Gráfico 34 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por <i>S. aureus</i> marcado com PI (DCFH + <i>S. aureus</i>), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4 segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009 (*p< 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal).....	106
Gráfico 35 -	Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado com <i>E. coli</i> marcada com PI (DCFH + <i>E. coli</i>), medidos pela intensidade de fluorescência PMNs do sangue de cabritos que ingeriram leite – G4, segundo a idade –São Paulo- 2008 a 2009 (*p< 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal).....	107
Gráfico 36 -	Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por <i>S. aureus</i> marcado com PI, de cabritos que ingeriram leite – G4 e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009.....	109
Gráfico 37 -	Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por <i>S. aureus</i> marcado com PI, antes (t0) e após a ingestão de leite - G4 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009.....	109

Gráfico 38 -	Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI, de cabritos que ingeriram leite – G4 e a evolução da idade- São Paulo- 2008 a 2009.....	110
Gráfico 39 -	Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por <i>E. coli</i> marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de leite – G4 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009.....	110
Gráfico 40 -	Evolução dos valores médios dos teores de cortisol (ng/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009.....	112
Gráfico 41 -	Histograma demonstrativo dos valores médios e desvios – padrão do número de leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{l}$) do sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009....	115
Gráfico 42 -	Histograma demonstrativo dos valores médios e desvios – padrão do número de neutrófilos polimorfonucleares $\times 10^3/\mu\text{l}$ do sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingeridos (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4)- São Paulo - 2008 a 2009.....	117
Gráfico 43 -	Variação dos valores séricos médios de proteína sérica total (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo- 2008 a 2009.....	124
Gráfico 44 -	Variação dos valores séricos médios de albumina (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009.....	125

Gráfico 45 -	Varição dos valores séricos médios de alfa globulina (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo- 2008 a 2009.....	126
Gráfico 46 -	Varição dos valores séricos médios de beta globulinas (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009.....	127
Gráfico 47 -	Varição dos valores séricos médios de gama globulinas (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009.....	128
Gráfico 48 -	Atividade sérica da enzima gama glutamil transferase (UI/L) - GGT no sangue de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009.....	129
Gráfico 49 -	Valores séricos médios de IgG (mg/dl) no sangue de cabritos dos diferentes grupos experimentais, observados antes da ingestão do colostro ou leite (t0) e após a mamada (t1 a t4) - São Paulo- 2008 a 2009.....	131
Gráfico 50 -	Valores séricos médios de IgM (mg/dl) no sangue de cabritos dos diferentes grupos experimentais, observados antes da ingestão do colostro ou leite (t0) e após a mamada (t1 a t4) - São Paulo- 2008 a 2009.....	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores médios e desvios - padrão da temperatura corporal (°C) de cabritos neonatos que receberam colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” G3 e somente leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	74
Tabela 2 -	Valores médios e desvios - padrão da frequência de batimentos cardíacos por minuto (bpm) de cabritos neonatos que receberam colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e somente leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	75
Tabela 3 -	Valores médios e desvios padrão da frequência de movimentos respiratórios por minuto (mpm) de cabritos neonatos que receberam colostro de cabra “in natura” -G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “ in natura” - G3 e somente leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	76
Tabela 4 -	Valores das médias e desvios-padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos, “in vitro”, obtidos para do metabolismo oxidativo espontâneo (basal) (DCFH-DA- solução de diacetato 2’7’diclorofluoresceína) e estimulado pelo <i>Staphylococcus aureus</i> (cepa ATCC 25923) (DCFH + <i>S. aureus</i>), e pela <i>Escherichia coli</i> (cepa O98:H28) (DCFH + <i>E. coli</i>), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em animais que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	79
Tabela 5 -	Valores médios e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo <i>S. aureus</i> e pela <i>E. coli</i> marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1 – São Paulo – 2008 a 2009.....	84

Tabela 6 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela <i>S. aureus</i> marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1 - São Paulo – 2008 a 2009.....	85
Tabela 7 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela <i>E. coli</i> marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1- São Paulo – 2008 a 2009.....	86
Tabela 8 -	Valores das médias e desvios-padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos, “in vitro”, obtidos para o metabolismo oxidativo espontânea (basal)(DCFH-DA -solução de diacetato 2’7’diclorofluoresceína) e estimulado pelo <i>Staphylococcus aureus</i> (cepa ATCC 25923) (DCFH+ <i>S. aureus</i>), e pela <i>Escherichia coli</i> (cepa O98:H28) (DCFH+ <i>E. coli</i>), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos – G2, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	88
Tabela 9 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo <i>S. aureus</i> e pela <i>E. coli</i> marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos – G2 - São Paulo - 2008 a 2009.....	92
Tabela 10 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pelo <i>S. aureus</i> marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56° C por 60 minutos - G2 - São Paulo – 2008 a 2009.....	93

Tabela 11 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela <i>E. coli</i> marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56° C por 60 minutos - G2 - São Paulo – 2008 a 2009.....	94
Tabela 12 -	Valores das médias e desvios - padrão da intensidade de fluorescência obtidos na análise do metabolismo oxidativo espontâneo (basal) (DCFH-DA- solução de diacetato 2'7'diclorofluoresceína) de PMNs do sangue de cabritos , “in vitro”, e estimulados pelo <i>Staphylococcus aureus</i> (cepa ATCC 25923) (DCFH+ <i>S. aureus</i>), e pela <i>Escherichia coli</i> (cepa O98:H28) (DCFH+ <i>E. coli</i>), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em animais que ingeriram colostro de vaca “in natura”- G3, segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009.....	96
Tabela 13 -	Valores médios e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo <i>S. aureus</i> e pela <i>E. coli</i> marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram colostro de vaca “in natura”- G3 – São Paulo – 2008 a 2009.....	100
Tabela 14 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela <i>S. aureus</i> marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca – G3 -São Paulo – 2008 a 2009.....	101
Tabela 15 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela <i>E. coli</i> marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca – G3- São Paulo – 2008 a 2009.....	102

Tabela 16 -	Valores das médias e desvios - padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos, “in vitro”, obtidos para o metabolismo oxidativo espontâneo (basal) (DCFH-DA- solução de diacetato 2’7’diclorofluoresceína) e estimulado pelo <i>Staphylococcus aureus</i> (cepa ATCC 25923) (DCFH + <i>S. aureus</i>), e pela <i>Escherichia coli</i> (cepa O98:H28) (DCFH + <i>E. coli</i>), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em animais que ingeriram leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	104
Tabela 17 -	Valores médios e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo <i>S. aureus</i> e pela <i>E. coli</i> marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram leite – G4 – São Paulo- 2008 a 2009.....	108
Tabela 18 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela <i>S. aureus</i> marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4 - São Paulo – 2008 a 2009.....	109
Tabela 19 -	Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela <i>E. coli</i> marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4- São Paulo – 2008 a 2009.....	110
Tabela 20 -	Valores médios e desvios – padrão dos teores de cortisol (ng/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009.....	112

Tabela 21 -	Valores médios absolutos e desvios-padrão dos componentes do leucograma de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1; colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e leite – G4) - São Paulo, 2008 a 2009.....	114
Tabela 22 -	Valores médios e desvios – padrão do número de leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{l}$) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4)- São Paulo - 2008 a 2009.....	115
Tabela 23 -	Valores médios e desvios – padrão do número de neutrófilos polimorfonucleares $\times 10^3/\mu\text{l}$ do sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingeridos (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” –G3 e leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009.....	116
Tabela 24 -	Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão colostro de cabra “in natura” - G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	120
Tabela 25 -	Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	121
Tabela 26 -	Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão colostro de vaca “in natura”- G3, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	122

Tabela 27 -	Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão apenas leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009.....	123
Tabela 28 -	Valores séricos médios e desvios – padrão de proteína total (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo – 2008 a 2009.....	124
Tabela 29 -	Valores séricos médios e desvios – padrão de albumina (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo-2008 a 2009.	125
Tabela 30 -	Valores séricos médios e desvios – padrão de alfa globulina (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009.....	126
Tabela 31 -	Valores séricos médios e desvios – padrão de beta globulina (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009.....	127
Tabela 32 -	Valores séricos médios e desvios – padrão de gamaglobulinas (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009.....	128

Tabela 33 -	Valores séricos médios e desvios – padrão da atividade sérica de gamaglutamiltransferase (UI/L) -GGT no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e Leite –G4) - São Paulo- 2008 a 2009.....	129
Tabela 34 -	Valores séricos médios e desvios – padrão da concentração de IgG (mg/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e Leite – G4) - São Paulo- 2008 a 2009.....	131
Tabela 35 -	Valores séricos médios e desvios –padrão da concentração de IgM (mg/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo- 2008 a 2009.....	132

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos. Em destaque a população de polimorfonucleares- São Paulo- 2008 a 2009.....	161
Figura 2 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	161
Figura 3 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	162
Figura 4 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos incubados com <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	162
Figura 5 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos incubados com <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	162
Figura 6 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	163
Figura 7 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	163
Figura 8 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	163

Figura 9 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	164
Figura 10 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos incubados com DCFH-DA. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	164
Figura 11 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com DCFH-DA e <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	164
Figura 12 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com DCFH-DA e <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	165
Figura 13 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos incubados com DCFH-DA e <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	165
Figura 14 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos incubados com DCFH-DA e <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	165
Figura 15 -	Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com DCFH-DA e <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	166

Figura 16 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com DCFH-DA e <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	166
Figura 17 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com DCFH-DA e <i>S. aureus</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	167
Figura 18 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com DCFH-DA e <i>E.coli</i> marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009.....	167

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µl	microlitro
ACD	Ácido citrato dextrose
ADCC	Citotoxicidade celular dependente de anticorpos
Bpm	Batimentos por minuto
CAE	Artrite encefalite caprina
d.p.	Desvio padrão
DCF	2'7'diclorofluoresceína
DCFH	2'7'diclorodihidrofluoresceína
DCFH-DA	Diacetato 2'7' diclorodihidrofluoresceína
dl	Decilitro
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Acido etileno tetra-acetico diamina
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EROS	Espécies reativas de oxigênio
FACS	Fluorescence activated cell sorter
FL1	Fluorescência 1
FL2	Fluorescência 2
FMVZ	Faculdade de medicina veterinaria e zootecnia
FSC	<i>Forward scatter characteristic</i>
FTIP	Falha de transferência de imunidade passiva
g	grama
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
G3	Grupo 3
G4	Grupo 4
GGT	Gamaglutamiltransferase
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
Hs	Horas
IDAG	Teste de imunodifusão em agar gel
Ig	Imunoglobulina

IgM	Imunoglobulina da classe M
IgG	Imunoglobulina da classe G
IM	Intra muscular
IV	Intra venosa
Min.	Minuto
ml	Mililitro
mM	Mili Mol
Mm	Milímetro
Mpm	Movimento por minuto
Nacl	Cloreto de sódio
NBT	Nutroblue tetrazolium
ng	Nanograma
p.n.	pós nascimento
P.T.	Proteína total
P.V.	Peso vivo
PBS	Solução tampão salina de fosfato
PI	Iodeto de propidio
PMNs	Polimorfonuclear
q.s.p.	quantidade suficiente para
rpm	rotação por minuto
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SSC	<i>side scatter characteristic</i>
T0	antes da ingestão do colostro/ leite
T1	até 48horas pós nascimento
T2	de 72 a 96horas pós nascimento
T3	de 168 a 192horas pós nascimento
T4	de 336 a 360 horas pós nascimento
UI	Unidade Internacional
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
°C	graus Celsius
γ	gama
μ	micro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	42
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	44
2.1	O COLOSTRO E A IMUNIDADE NO NEONATO.....	44
2.2	O PAPEL DO NEUTRÓFILO NA RESPOSTA IMUNE DO NEONATO.....	47
2.3	FALHA NA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA E SUAS CONSEQUÊNCIAS.....	51
2.4	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DE NEUTRÓFILOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE CITOMETRIA DE FLUXO.....	54
3	OBJETIVOS.....	56
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	57
4.1	ANIMAIS.....	57
4.2	SELEÇÃO E MANEJO DOS CABRITOS.....	57
4.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	58
4.4	COLHEITA DE SANGUE.....	61
4.5	REAGENTES PARA AVALIAÇÃO FUNCIONAL DOS PMNS.....	61
4.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNCIONAL DOS POLIMORFONUCLEARES (PMNS).....	64
4.6.1	Análise do Metabolismo Oxidativo.....	64

4.6.2	Análise da Fagocitose.....	65
4.6.3	Mensuração do Metabolismo Oxidativo e da Fagocitose.....	67
4.6.4	Leitura das amostras no Citômetro de Fluxo.....	67
4.7	EXAMES COMPLEMENTARES.....	68
4.7.1	Cortisol.....	68
4.7.2	Proteinograma.....	69
4.7.3	Quantificação das imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM).....	69
4.7.4	Gamaglutamiltransferase (GGT).....	70
4.7.5	Leucograma.....	70
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	71
5	RESULTADOS.....	72
5.1	ATIVIDADE FUNCIONAL DE NEUTRÓFILOS POLIMORFONUCLEARES (PMNs) DO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS “IN VITRO”	77
5.1.1	Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 1 (G1).....	77
5.1.1.1	Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos “in vitro”	78
5.1.1.2	Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”	82
5.1.2	Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 2 (G2).....	87

5.1.2.1	Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”	87
5.1.2.2	Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”	91
5.1.3	Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 3 (G3)	95
5.1.3.1	Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”	95
5.1.3.2	Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos “in vitro”	99
5.1.4	Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 4 (G4)	103
5.1.4.1	Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”	103
5.1.4.2	Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”	107
5.2	EXAMES COMPLEMENTARES	111
5.2.1	Cortisol	111
5.2.2	Resultados dos componentes do leucograma	113
5.2.2.1	Resultados da avaliação do número total de leucócitos do sangue de cabritos neonatos.....	113
5.2.2.2	Resultados da avaliação do número de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) do sangue de cabritos neonatos.....	116
5.2.3	Resultados dos valores séricos do proteinograma e da atividade sérica da Gamaglutamiltransferase	117

5.2.4	Determinação das imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM).....	130
6	DISCUSSÃO.....	133
6.1	ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS DO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS “IN VITRO” – GRUPO 1.....	135
6.2	ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS DO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS “IN VITRO” – GRUPO 2.....	138
6.3	ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS DO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS “IN VITRO” – GRUPO 3.....	140
6.4	ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS DO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS “IN VITRO” – GRUPO 4.....	142
6.5	EXAMES COMPLEMENTARES.....	144
7	CONCLUSÃO.....	150
	REFERÊNCIAS.....	152
	APÊNDICE.....	161

1 INTRODUÇÃO

A caprinocultura é um segmento da pecuária que vem progressivamente expandindo e diversificando a sua exploração nas mais diversas regiões do mundo. Nos primórdios da caprinocultura brasileira, esses pequenos ruminantes eram utilizados apenas para a subsistência familiar objetivando a produção de leite e carne (CASTRO, 1984; BRITO et al., 2006). Com a evolução da seleção genética e o desenvolvimento tecnológico houve o conseqüente aumento da produtividade, passando a criação da espécie caprina a representar uma maior fonte de renda para os produtores rurais. Esses fatores tem favorecido a ampliação da comercialização de seus produtos tradicionais, carne, couro, leite e derivados (PEETERS et al., 1992; BENCINI; PULINA, 1997), com alta lucratividade e rápido giro financeiro, tendo uma significativa participação na economia agropecuária nacional (SEBRAE, 2004).

O Nordeste é a região do Brasil, onde existem os maiores rebanhos de caprinos que, quase em sua totalidade, são criados em sistema extensivo. A segunda maior população de caprinos encontra-se na região Sul, sendo aquela possuidora dos melhores rebanhos, do ponto de vista zootécnico e de produtividade leiteira (VIEIRA, 1986; IBGE, 1996). Na região Sudeste, os rebanhos de caprinos, por se localizarem próximo a cidade de São Paulo, são destinados para produtos com maior agregação de valor, destacando-se a produção de queijos finos e cortes especiais de carne (IBGE, 1996; APTA, 2008). Apesar da criação brasileira de caprinos estar em expansão, o desempenho produtivo é ainda considerado baixo tendo como fatores limitantes os índices reprodutivos inadequados e a alta mortalidade neonatal (MENDES, 1998).

Em meados da década de 80, o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) foi introduzido nos rebanhos nacionais, após a importação de animais oriundos da França e Canadá. A partir de então, a doença se disseminou em nossos rebanhos, principalmente pelo contato de animais jovens com o colostro e leite de cabras infectadas, sangue e fômites contaminados (RIBEIRO, 1997). Essa doença causa a queda na produção leiteira, de modo que a inexistência de tratamento representa perdas econômicas importantes associadas ao descarte precoce de animais doentes e torna imprescindível a utilização de medidas de controle (PINHEIRO; GOUVEIA; ALVES, 2001; BOHLAND; D'ANGELINO, 2005) como fornecer colostro de vaca ou até mesmo colostro de cabra aquecido para minimizar a transmissão da doença.

No período neonatal que abrange o momento do nascimento até 28 dias de vida ocorre grande mortalidade de neonatos ruminantes que é um dos principais fatores responsáveis por perda econômica nos rebanhos de países desenvolvidos. Nesta fase inicial da vida extra-uterina caracterizada por alta susceptibilidade a infecções, com alta morbidade e mortalidade, o colostro representa uma importante fonte de nutrientes e de proteção imunológica ao neonato. Os ruminantes nascem com taxas insignificantes de imunoglobulinas séricas, devido à impermeabilidade da placenta a essas macromoléculas. O sistema imunológico destes animais é suficientemente desenvolvido, porém incapaz de responder rapidamente a agressões do meio ambiente (TIZARD, 2002). A ausência da imunidade específica e a importância da transferência da imunidade passiva por meio do colostro em bezerros neonatos já foi bem estabelecida por vários autores (PORTER, 1972; BENESI, 1992; FEITOSA, 1998). Em relação aos pequenos ruminantes, Simões et al. (2005), provaram que a ingestão de 400 ml do colostro pelo cabrito recém-nascido, nas primeiras oito horas de vida, proporciona maior imunidade passiva. Nessa mesma direção, Hodgson (1992) observou maiores taxas de mortalidade em pequenos ruminantes que não ingeriram o colostro ao nascer. Deve-se considerar ainda práticas diferenciadas de manejo de colostro utilizadas nesses neonatos.

As barreiras físicas do organismo do recém nascido são suficientes contra a maioria dos microorganismos. Embora o sistema imune seja ainda imaturo, a ingestão de colostro, após o nascimento, é mecanismo que melhora as defesas orgânicas contra infecções tornando a resposta imune celular mais eficiente para enfrentar possíveis agressões (TIZARD, 2002).

Apesar de alguns autores afirmarem que os caprinos apresentam a mesma resposta às infecções que os bovinos e ovinos (SMITH; SHERMAN, 1994), pesquisas específicas sobre a função dos fagócitos na espécie caprina frente a agentes infecciosos como *E. coli* e *S. aureus* ainda são escassas, merecendo estudos mais aprofundados para tal elucidação, sendo pois o objetivo desta pesquisa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste tópico serão abordados os assuntos referentes ao colostro e à imunidade no neonato; ao papel do neutrófilo na resposta imune de cabritos recém nascidos; à falha de transferência de imunidade passiva e suas conseqüências, e à avaliação da função de polimorfonucleares (PMNs) utilizando a citometria de fluxo.

2.1 O COLOSTRO E A IMUNIDADE NO NEONATO

Na fase inicial de vida do neonato caracterizada por grande susceptibilidade às infecções, com alta morbidade e mortalidade, o colostro representa uma importante fonte de nutrientes e proteção imunológica ao neonato (PUGH, 2004), sendo de fundamental importância para a adequada transferência de imunidade passiva.

No momento do parto, os mamíferos são expostos a variada gama de microorganismos devendo ser capazes de controlar uma invasão microbiana em um curto espaço de tempo. Essa defesa inicial dos neonatos é ainda inespecífica sendo representada pelos neutrófilos circulantes e pelo sistema complemento que apesar de atuantes não apresentam eficiência semelhante àquele do animal adulto (TIZARD, 2002), como verificado no estudo de Bernadina et al. (1991) no qual os recém nascidos mesmo apresentando um aumento da atividade fagocítica quando comparada a resposta dos neutrófilos dos animais adultos verificaram não ser tão satisfatórias.

A capacidade funcional do sistema imunológico dos neonatos ruminantes é incompleta tendo em vista que o número de linfócitos B (LB) circulantes é menor nos primeiros dias de vida quando comparado aos valores encontrados no animal adulto (ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003). Os LB se multiplicam independente de um estímulo antigênico, porém necessitam para o desenvolvimento completo da capacidade imune de uma estimulação antigênica (TIZARD, 2002). A produção de células sensíveis a determinados antígenos dependerá da seleção clonal e da multiplicação celular, portanto os anticorpos estarão presentes em quantidades reduzidas, insuficientes para o desenvolvimento de uma resposta específica a um desafio imediato (TIZARD, 2002; ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

O neonato necessita se adaptar ao meio externo, dependendo para tal da ativação do eixo hipotálamo-hipofise- adrenal, que é mediado principalmente pelo cortisol, potente estimulador do metabolismo (WOOD, 1999). As imunidades humoral e celular resultantes respectivamente da função de linfócitos B e T, apresentam limitações nas primeiras três semanas de vida dos recém nascidos. Os altos teores de cortisol podem ser atribuídos ao estresse fisiológico do nascimento ou patológico devido a possibilidade da ocorrência da síndrome asfixia/hipoxia neonatal (BENESI, 1992; GASPARELLI et al., 2009); os teores de corticóides circulantes ao nascimento são muito elevados, mantendo-se por cerca de 10 a 12 dias com taxas acima do nível basal observado em animais com maior idade. Os corticóides podem ter efeito supressor sobre linfócitos e macrófagos (TIZARD, 2002). Segundo Paiva et al. (2006) a ingestão do colostro tende a reduzir as taxas de cortisol, possivelmente devido a mobilização das reservas corporais.

O sistema imune do neonato ao nascimento ainda é muito imaturo necessitando de um longo tempo para estabelecer uma resposta específica e eficiente frente aos desafios ambientais (SMITH; SHERMAN, 1994), tendo de contar para tal com anticorpos de origem materna obtidos do colostro e das células T que são essenciais para a sua sobrevivência.

Estes anticorpos são adquiridos por meio da ingestão e absorção do colostro, pois os ruminantes apresentam uma placenta sindesmocorial, ou seja, o epitélio coriônico fica em contato direto com os tecidos uterinos, impossibilitando a passagem transplacentária de imunoglobulinas, devido à sua impermeabilidade a essas macromoléculas (FEITOSA, 1999; TIZARD, 2002; VAZ et al., 2004).

O colostro é o primeiro leite produzido pela mãe após o parto, é rico em anticorpos, nutrientes, células e diversas outras substâncias essenciais. Dentre os seus componentes protéicos a presença das imunoglobulinas são necessárias no primeiro momento à defesa orgânica, até que o sistema imune tenha condições de fornecer proteção satisfatória (BORGES; MENDES; BENESI, 1999). O colostro também tem grande importância no estabelecimento da imunidade da mucosa intestinal do neonato, sendo fonte de imunoglobulinas que impedem a ligação de bactérias aos enterócitos do hospedeiro (SALMON, 1999; ROTHKÖTTER; PABST; BAILEY, 1999). As barreiras intestinais à absorção destas macromoléculas não estão presentes por até 24 horas pós- nascimento nos bezerros e cordeiros recém-nascidos, enquanto que nos cabritos a absorção ocorre até quatro dias pós-nascimento (BLOOD; RADOSTITS, 1991). Apesar do fechamento do epitélio intestinal à passagem das imunoglobulinas ocorrer mais tardiamente na espécie caprina, recomenda-se que o colostro seja fornecido pós-nascimento o mais rápido possível, a fim de

se garantir uma melhor absorção destas proteínas pelo neonato (JEFFCOTT, 1974 apud BLOOD; RADOSTITS, 1991; SMITH; SHERMAN, 1994).

As proteínas que constituem o colostro são absorvidas intactas, passando para a circulação do neonato nas primeiras horas de vida. O colostro perde a capacidade de imunização em função do tempo, da mesma forma o recém nascido ruminante perde a capacidade de absorção de imunoglobulinas pelo epitélio intestinal horas após o nascimento (STOTT et al., 1979).

As imunoglobulinas representam um grupo de glicoproteínas, estando algumas localizadas na superfície dos LB funcionando como receptores. Outras células permanecem livres no sangue ou na linfa, possuindo a capacidade de ligação específica a antígenos, eliminando-os do organismo. A análise das proteínas séricas indica que as imunoglobulinas estão distribuídas principalmente pela fração gama do soro (ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

Podem-se identificar cinco classes de imunoglobulinas: IgM, IgG, IgA, IgD e IgE. As imunoglobulinas de classe IgG e IgE apresentam também subclasses que são diferenciadas por meio dos aspectos estruturais e antigênicos (TIZARD, 2002).

No colostro estão presentes a IgG que constitui de 70 a 80% da imunoglobulina total, a IgM (10 a 15%) e a IgA (10 a 15%). Cada uma delas tem uma função específica. A IgG é responsável por identificar e destruir patógenos; a IgM pela primeira proteção contra quadros de septicemia e a IgA pela proteção de mucosas, prevenindo a adesão dos patógenos. Esses efeitos perduram conforme o momento p.n. de ingestão de colostro pelo recém nascido (TIZARD, 2002; ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

A má absorção do colostro pode estar ligada a diversos fatores, influenciando a imunidade passiva e aumentando as chances de ocorrer doenças nos recém nascidos. Estes fatores estão diretamente ligados ao momento da ingestão do colostro, modo de administração e quantidade de colostro ingerido, metabolismo do recém nascido, sexo, raça e espécie (VAZ et al., 2004).

O colostro deve ser fornecido ao recém nascido nas primeiras horas de vida, pois resulta em baixos índices de mortalidade, altas concentrações de gamaglobulinas, bom desempenho corporal e alta resistência a doenças (VIHAN, 1988; SANTANA et al., 2003).

A qualidade do colostro está diretamente relacionada à sua concentração de imunoglobulinas, podendo esta ser reflexo da idade da mãe, do estado nutricional materno e à sua concentração de anticorpos séricos. Santos e Grongnet (1990) citam que vacas de primeira e segunda cria produzem colostro com menores quantidades de imunoglobulinas do

que vacas que já pariram mais vezes. As concentrações de IgG adequadas para garantir a sobrevivência do neonato caprino ainda são muito discutidas entre os pesquisadores, recomendando-se no mínimo 1200mg/dl de imunoglobulinas séricas para neonatos caprinos, a fim de assegurar boa saúde (O'BREIN; SHERMAN, 1993).

O volume de colostro administrado na primeira mamada tem influência direta na massa das imunoglobulinas ingeridas. Em geral, este volume deve corresponder a 10% do peso vivo. Segundo Simão et al. (2005), cabritos que ingeriram 400ml de colostro divididos em duas alimentações apresentaram maiores índices de proteção. Os animais que receberam amamentação natural podem muitas vezes deixar de ingerir volumes adequados de colostro, ocorrendo absorção deficitária das imunoglobulinas. A assistência precoce ao neonato pode evitar essa situação. Em sistemas leiteiros de bovinos, a amamentação artificial é muito empregada, porém devido ao tipo de mamadeira e falta de paciência do tratador em fornecer a quantidade necessária de colostro, muitos recém nascidos acabam não ingerindo a quantidade de colostro requerida (BLOOD; RADOSTIS, 1991).

A primeira dose do colostro deve ser fornecida ao neonato nas primeiras 6 horas após o nascimento, podendo-se a seguir realizar o fracionamento do colostro em duas ou mais doses durante as seis horas seguintes de vida, tendo esta administração um efeito não só sobre a saúde do neonato como também sobre o seu desenvolvimento corpóreo (SANTOS; GRONGNET, 1990).

2.2 O PAPEL DO NEUTRÓFILO NA RESPOSTA IMUNE DO NEONATO

O sistema mielóide é composto pelos granulócitos, denominados polimorfonucleares. Essas células estão envolvidas na resposta imune inata e pertencem a um grupo importante de leucócitos que inclui os monócitos, os macrófagos e os neutrófilos, que agem englobando os microorganismos no processo denominado de fagocitose. Os neutrófilos têm origem na medula óssea, seu citoplasma é preenchido por grânulos, e o núcleo é lobulado e irregular, são células fagocíticas que apresentam ação rápida, porém são incapazes de um esforço prolongado (TIZARD, 2002).

O processo de fagocitose é dividido em quatro estágios: a quimiotaxia, onde ocorre a migração do fagócito direcionada para dentro do tecido; a aderência e opsonização, no qual

onde o neutrófilo ao encontrar uma partícula estranha, liga-se a ela para realização da fagocitose; a ingestão, uma vez ligada à superfície neutrofílica forma-se o fagossomo no interior da célula que engloba a partícula e a destruição que ocorre por dois mecanismos distintos, a explosão respiratória e a digestão por enzimas lisossomais (KOBAYASHI et al., 2003; ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

Estudando a capacidade fagocítica dos neutrófilos e atividade de opsonização no soro antes e depois da ingestão do colostro, em uma amostra de 16 cordeiros neonatos, Bernadina et al. (1991) verificaram o aumento, em até duas vezes, do número de neutrófilos circulantes no sangue dois dias após a ingestão do colostro. Esse resultado mostra que animais submetidos a um adequado manejo de colostro apresentam condições de combater possíveis infecções.

Os estudos relacionados à avaliação do leucograma e seu comportamento influenciado pela idade em bezerros neonatos, têm demonstrado que estes animais nascem com um número maior de neutrófilos no sangue e que após um curto período de vida ocorre uma inversão da relação neutrófilo:linfócito, com um predomínio de linfócitos que perdura no adulto em condições de normalidade (BENESI, 1992). Barioni (2003) estudando a influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol) sobre o leucograma, proteinograma, teores de imunoglobulina G, fragilidade osmótica e metabolismo oxidativo eritrocitário em caprinos da raça Saanen, utilizou 35 cabritos neonatos do nascimento até os 120 dias de vida, e observou que a inversão da relação neutrófilo:linfócito, tal qual ocorre nos bezerros, foi verificada a partir da primeira semana de vida. Contrariando estas observações, Silva (2005) em estudo dos constituintes séricos e hematológicos em 40 caprinos neonatos alimentados com colostros de cabras ou de vacas, distribuídos por quatro grupos experimentais, observou que no leucograma dos neonatos até 28 dias de idade o número de neutrófilos foi significativamente maior 24 horas após o nascimento, mantendo-se com este padrão de comportamento aos sete, 14 e 28 dias.

Costa et al. (2008) correlacionaram os altos teores de cortisol no nascimento ao número elevado de neutrófilos circulantes em bezerros recém nascidos, destacando que este hormônio apresenta grande declínio das suas taxas nos 12 primeiros dias de vida, acompanhado pela diminuição do número de neutrófilos.

Os PMNs se encontram na circulação sanguínea, e não estão presentes em tecidos saudáveis, no entanto são as primeiras células a serem recrutadas no caso de infecção. Seu tempo de vida é curto, de apenas alguns dias, constituindo cerca de 60 a 75% dos leucócitos sanguíneos nos carnívoros e de 20 a 35% nos ruminantes dependendo da idade (TIZARD,

2002). Durante a infecção bacteriana pode haver aumento em cerca de dez vezes no número de neutrófilos circulantes. Essas células a medida que são liberadas da medula óssea, migram para a corrente sanguínea e seguem para o interior do tecido lesionado (ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

A explosão respiratória é um mecanismo de destruição de partículas estranhas caracterizada por aumento do consumo de oxigênio pelas células PMNs no processo de fagocitose, gerando uma grande quantidade de superóxido, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. A produção dessas substâncias é eficiente como primeira linha de defesa do organismo contra infecções (KOBAYASHI et al., 2003).

Existem pequenas diferenças quantitativas na atividade dos neutrófilos entre as espécies animais domésticas, especialmente na intensidade da explosão respiratória, assim sendo os neutrófilos dos ovinos, por exemplo, parecem produzir menos superóxido que os neutrófilos dos bovinos (TIZARD, 2002).

Com relação à participação destas células na defesa orgânica, a investigação da atividade fagocítica dos neutrófilos tem sido medida por vários métodos. Pela observação microscópica de partículas ingeridas por fagocitose (bactérias marcadas com substâncias radioativas) ou pela contagem de colônias para quantificar as bactérias removidas do sobrenadante ou liberadas de neutrófilos lisados após a ingestão da bactéria viva (ANDREASEN; ROTH, 2000). Pela medida do metabolismo oxidativo após a fagocitose, os macrófagos e neutrófilos iniciam a mobilização dos mecanismos de citotoxicidade bactericidas dependentes (“explosão respiratória”) ou não de oxigênio (TIZARD, 2002). Os mecanismos independentes de oxigênio empregam alterações bactericidas de pH nos fagolisossomos e nas enzimas lisossômicas (PAAPE et al., 1991). Os produtos oxidantes gerados pela explosão respiratória são importantes para a função bactericida dos neutrófilos (KANEKO; CORNELIUS, 1989; AFONSO et al., 2002).

Atualmente, as técnicas, que avaliam a função destas células por meio do uso de citometria de fluxo, são amplamente utilizadas. Estas permitem discriminar, com maior velocidade, as diferentes populações celulares, necessitando uma menor quantidade de células nos estudos (NAKAGE et al., 2005). Nestes métodos, as partículas ou microorganismos são marcados com diferentes fluorocromos permitindo a mensuração da partícula ou bactéria fagocitada. A mensuração da atividade dos fagócitos pode também ser realizada por meio do consumo de oxigênio ou da quantificação de espécies reativas de oxigênio como o peróxido de hidrogênio (PICK; MIZEL, 1981), que pode ser medida, indiretamente, utilizando o reagente 2'7' diacetato diclorofluoresceína (DCFH-DA) que é oxidado a 2'7'

diclorofluoresceína (DCF) que emite fluorescência verde proporcional à produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (PARASKEVAS, 1999).

Estudos da atividade dos fagócitos do sangue utilizando a citometria de fluxo foram realizados em espécies ruminantes. Em bezerros neonatos, que receberam diferentes volumes de colostro para avaliar o metabolismo oxidativo e a fagocitose utilizando diferentes estímulos (*S. aureus* e *E.coli*), verificou-se que a atividade funcional de PMNs do sangue “in vitro” é mais eficiente para *S. aureus* do que para *E.coli* (BOHLAND, 2008), um dos principais agentes causadores de diarreia nesses neonatos. Em caprinos, Fernández et al. (2006), estudando a influência do colostro de cabra tratado pelo calor sobre a função imunitária de cabritos neonatos, distribuíram 26 animais em dois grupos. A atividade fagocítica foi quantificada por citometria de fluxo e determinada utilizando um teste comercial (Phagotest[®] kit). Verificaram que a porcentagem de fagocitose não foi expressiva no grupo tratado com colostro aquecido, entretanto sofreu um aumento desta atividade. Loste et al. (2008) no estudo do efeito do colostro tratado pelo calor sobre os parâmetros imunológicos de cordeiros neonatos, distribuíram 35 recém nascidos por dois grupos (um que recebeu colostro de ovelha “in natura” e outro grupo que mamou colostro de ovelha aquecido a 56°C por 30 minutos). Na avaliação do metabolismo oxidativo e da fagocitose utilizou-se a *E.coli* como estímulo e um teste comercial (Phagotest[®] kit), verificaram que o tratamento com calor não promoveu efeito significativo sobre a capacidade de opsonização ou em relação a fagocitose dos neutrófilos e que estas funções aumentaram com a idade. Em cordeiros neonatos, Bernadina et al. (1991), avaliando a capacidade fagocítica e a atividade de opsonização dos neutrófilos antes e depois de 24 a 36 horas da ingestão do colostro, em 16 animais, distribuídos por dois grupos, verificaram que a ingestão do colostro promoveu aumento significativo na porcentagem de PMNs que fagocitaram, no entanto este aumento quando comparado aos animais adultos se mostrou significativamente menor.

Existem outros métodos para avaliar o metabolismo oxidativo dos neutrófilos, dentre eles a redução do tetrazolio de nitroazul (NBT). O NBT é um corante reduzido pelo anion superóxido a um precipitado insolúvel de coloração azul-escuro conhecido como formazam. A presença desse precipitado no interior da célula confirma a capacidade fagocitária do neutrófilo e também seu potencial de reação oxidativa, portanto sua capacidade microbicida. Foi proposto o uso de um extrato bacteriano inativado para estimular a resposta dos neutrófilos ao teste do NBT, nomeando-o de NBT estimulado (NBT-E) para melhorar a eficiência do método (COSTA et al., 2008).

2.3 FALHA NA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA E SUAS CONSEQUÊNCIAS

A prevalência de mortalidade perinatal na espécie caprina pode variar de 8 a 60%, conforme a região da criação e a precariedade do manejo a que estão submetidos estes animais (PEDROSA et al., 2003). Dessa forma, é necessário um manejo adequado do neonato, envolvendo não apenas medidas higiênico-sanitárias, mas também aquelas que permitam atingir as condições essenciais para garantir a máxima eficácia do sistema imunológico, a fim de diminuir as taxas de morbidade e mortalidade (REA et al., 1996; ARTHINGTON, 1997; PERINO; 1997).

A falha de transferência de imunidade passiva colostrar (FTIP) é caracterizada pela ausência de adequada concentração de imunoglobulinas plasmáticas no neonato, sendo diagnosticada em geral entre 24 e 48 horas após o nascimento. Pode ocorrer em criações onde o sistema de manejo e o fornecimento de colostro sejam adotados corretamente, pelo fato de que muitos partos são noturnos. Nesses casos o recém nascido não ingere a quantidade adequada de colostro, ou ainda mama fora do período adequado para absorção das imunoglobulinas (SMITH; SHERMAM, 1994). A FTIP pode estar relacionada a diversos fatores entre eles a rejeição da mãe; incapacidade do neonato em ingerir o colostro; quantidade e qualidade inadequadas do colostro ingerido; uma menor vitalidade do recém nascido, que também retarda e diminui a mamada do colostro, na chamada síndrome asfixia neonatal. Os recém nascidos com falha na transferência de imunidade passiva apresentam-se mais vulneráveis as infecções bacterianas e virais. A ocorrência das enfermidades depende do balanço entre a imunidade passiva alcançada e o desafio provocado pelo meio ambiente (BENESI, 1993).

A transferência da imunidade passiva em cabritos, principalmente no que se refere ao manejo do colostro, já foi estudada por alguns autores. Santana et al. (2003), avaliando a transferência de imunidade passiva em cabritos recém nascidos, dosaram as imunoglobulinas no sangue de 12 neonatos que ingeririam o colostro, constatando que o colostro contém os ingredientes necessários para garantir a defesa do cabrito ante possíveis infecções. Arguello et al. (2004a) no estudo do efeito de práticas de administração de colostro sobre as taxas séricas de IgG de 60 cabritos recém nascidos, verificaram que a quantidade de IgG consumida apresenta uma correlação positiva com a concentração de IgG presente no sangue especialmente nas primeiras 72 horas após a ingestão do colostro. Simões et al. (2005),

avaliando a imunidade passiva, morbidade neonatal e desempenho de cabritos em diferentes manejo de colostro, dosaram as imunoglobulinas no sangue de 58 neonatos que ingeriram diferentes quantidades de colostro em diferentes momentos, mostraram que a administração de um volume de colostro de 400 ml, divididos em dois oferecimentos nas primeiras horas de vida, seria suficiente para proteger os neonatos contra infecções. Arguello et al. (2003) estudaram os efeitos da refrigeração, pasteurização e congelamento sobre a preservação das IgGs do colostro de cabra, em 50 amostras de colostro obtidas de duas propriedades, concluindo que o colostro não deve permanecer congelado por mais de três semanas, pois este procedimento pode levar a uma diminuição dos teores de imunoglobulinas e que para se obter melhor conservação melhor das imunoglobulinas deve-se congelar o colostro em pequenas quantidades. Os outros métodos de conservação avaliados no trabalho não interferiram no teor destas proteínas. Arguello et al. (2004b) em outro estudo da transferência de imunidade passiva em cabritos avaliaram o uso de colostro de ovelha, colostro de cabra refrigerado e congelado em 45 neonatos que foram respectivamente distribuídos em três grupos. Verificaram que o colostro de ovelha não protege o cabrito neonato contra infecções nas primeiras semanas de vida, não servindo como substituto do colostro de cabra. O índice de mortalidade verificado foi de 10% naqueles que ingeriram colostro de cabra refrigerado, 0% nos que mamaram colostro congelado e de 50% nos que receberam colostro de ovelha. Silva (2005), estudando os constituintes séricos e hematológicos de 40 cabritos neonatos observou que o colostro de vaca poderia ser utilizado como uma fonte alternativa de transferência de imunidade passiva, no entanto, destacou que as vacas doadoras deveriam permanecer ao mesmo ambiente que os cabritos, sendo submetidas aos mesmos desafios microbianos que estes neonatos iriam enfrentar ao nascimento.

Avaliando o efeito da concentração das imunoglobulinas do colostro na imunidade de cabritos, utilizando o método de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), Rodríguez et al. (2009), analisou 56 neonatos, distribuídos por quatro grupos experimentais que receberam diferentes concentrações de IgGs em um colostro padronizado, verificando que a concentração elevada de imunoglobulinas do colostro padronizado melhorou a absorção das imunoglobulinas.

O diagnóstico da FTIP pode ser feito por métodos diretos ou indiretos. Os diretos avaliam as taxas de imunoglobulinas (Igs) no sangue dos neonatos. Os indiretos determinam substâncias cujas concentrações têm alta correlação com as taxas de Igs, como os componentes do proteinograma e enzima colostrar. A dosagem da proteína total, das globulinas, das gamaglobulinas e da gamaglutamiltransferase (GGT) representam métodos já

bem estabelecidos por diversos autores em neonatos ruminantes (FEITOSA et al., 2001; SILVA; FAGLIARI; CESCO, 2004; FEITOSA et al., 2006; LIMA et al., 2009).

As conseqüências da FTIP são as maiores freqüências de morbidade e mortalidade, por doenças características do período neonatal. As infecções neonatais representam 50% das enfermidades que causam mortalidade nos cabritos, e dentre elas, as diarreias se destacam como as principais fontes de infecção nos primeiros dias de vida (MEDEIROS et al., 2005), podendo ainda ocorrer as broncopneumonias, as inflamações umbilicais e suas complicações e as septicemias. Estes neonatos devido à capacidade reduzida de produção de anticorpos são mais susceptíveis às infecções por patógenos causadores de diarreias como a *Escherichia coli* enterotoxigenica, *Rotavirus*, *Cryptosporidium spp* e *Salmonella spp* (PUGH, 2004; MARTIN; AITKEN, 2000). Esses agentes quando atuam em associação a um manejo inadequado aumentam os índices de mortalidade neonatal (SMITH; SHERMAN, 1994; SANTANA et al., 2003; SIMÕES et al., 2005), sendo causa de grandes prejuízos econômicos na atividade agropecuária, não só pela mortalidade provocada entre os animais afetados, mas também pela morbidade, com os tratamentos frustrados e particularmente, pela perda de peso e desenvolvimento retardado dos neonatos (SANTOS; GRONGNET, 1990).

As broncopneumonias apresentam uma menor ocorrência que as diarreias, não sendo entretanto menos importantes. Os animais acometidos, quando não tratados adequadamente, apresentam um prognóstico reservado, podendo implicar retardo no crescimento dos sobreviventes. Outras enfermidades que podem acometer com maior frequência e gravidade os neonatos ruminantes com inadequada imunidade, são as onfalopatias, artrites e as septicemias (PUGH, 2004; MARTIN; AITKEN, 2000).

Os problemas umbilicais são representados principalmente pelas inflamações decorrentes de infecções durante ou imediatamente após o parto e que, quando localizadas em componentes internos do cordão umbilical são responsáveis por maiores perdas econômicas. As complicações podem provocar desde um menor ganho de peso até a morte do animal enfermo, fora os custos com veterinários e tratamentos (BLOOD; RADOSTIS, 1991).

2.4 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DOS NEUTRÓFILOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE CITOMETRIA DE FLUXO

O uso do microscópio de fluorescência e a contagem de colônias para quantificar bactérias removidas do sobrenadante são técnicas utilizadas para avaliação da capacidade fagocítica dos PMNs (BACAL; FAULHABER, 2003). Contudo, essas técnicas são lentas e semi quantitativas. Devido à importância da identificação das proteínas de superfície celular, foram desenvolvidos novos métodos para identificação destas células. As técnicas que avaliam a fagocitose por citometria de fluxo tornaram-se vantajosas discriminando com maior velocidade as populações celulares, necessitando de uma menor quantidade de células para os estudos (TIZARD, 2002). O método de citometria de fluxo por ser uma técnica de análise rápida complementa e amplia o conhecimento que é obtido por microscopia de luz (WEISS, 2002; ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

A citometria de fluxo constitui uma tecnologia relativamente recente, e seus primeiros aparelhos eram utilizados particularmente em centros de pesquisa, devido sua complexidade. Com o avanço tecnológico, surgiram aparelhos menores e mais práticos. Na última década, a sua utilização se expandiu de forma rápida aos laboratórios de investigação básica e de análises clínicas hematológicas (WEISS, 2002).

Na medicina veterinária, a citometria de fluxo é uma técnica emergente, utilizado na avaliação da emissão de fluorescência (FACS- Fluorescence Activated Cell Sorter). O aparelho mede o tamanho, a rugosidade e a complexidade interna da célula. Pode-se utilizar a combinação destes parâmetros para identificar todos os leucócitos sanguíneos (TIZARD, 2002). O fundamento básico da citometria de fluxo é fazer passar células ou partículas em suspensão alinhadas uma a uma, que foram marcadas com reagentes fluorescentes específicos para detecção de moléculas específicas, por uma fonte de luz, realizando uma análise multiparamétrica destas células. Este aparelho dispõe de cinco compartimentos bem definidos: (1) uma fonte de luz (laser); (2) um compartimento de fluídos, com a função de criar um fluxo laminar, mantendo um sistema regulável de pressões para que as células permaneçam no centro de um líquido isotônico caudal e atravessem, perpendicularmente, alinhadas uma a uma, a fonte de luz; (3) um sistema óptico constituído por um conjunto de lentes, espelhos e filtros que permite separar luzes de diferentes cores; (4) um conjunto de detectores, amplificadores e processadores de sinal luminoso, transformam a luz em sinal

digitalizado, susceptível a ser processada por um computador; e (5) um sistema informatizado para aquisição, análise e armazenamento dos resultados (BACAL; FAULHABER, 2003).

A técnica de citometria permite a análise e separação de células, assim como de outras estruturas intracelulares em suspensão, de forma sensível, objetiva e rápida. As informações obtidas são qualitativas e quantitativas sobre cada tipo de célula permitindo identificar sub-populações celulares diferentes, mesmo quando se apresentam em quantidades pequenas (BACAL; FAULHABER, 2003).

Essa técnica, em particular, vem sendo utilizada para mensurar a atividade fagocítica dos neutrófilos em caprinos (GUIGUEN et al., 1996; WINNICKA et al., 1999), em ovinos (WHIST; STORSET; LARSEN, 2002) em bovinos (SMITS; BURVENICH; HEYNEMAN, 1997; MENGE et al., 1998, KAMPEN et al., 2004; BOLHAND, 2008), em eqüinos (MASSOCO-SALLES GOMES; PALERMO NETO, 2004) e em outras espécies. As partículas usadas são marcadas com diferentes fluorocromos, permitindo que o processo de fagocitose seja mensurado por meio da intensidade de fluorescência. Para melhores resultados, as amostras de sangue devem ser processadas e analisadas o mais breve possível, recomendando que sejam refrigeradas e processadas dentro de duas horas após a colheita de sangue, a fim de evitar resultados falsos ou inconclusivos (BOHLAND et al., 2008).

Dessa forma, considerando a alta mortalidade de caprinos neonatos por infecções de diversas origens, as diferenças de manejo colostral utilizadas para o controle da CAE e a escassez de trabalhos avaliando a atividade funcional dos PMNs do sangue destes animais “in vitro” estimulada por bactérias gram negativas e gram positivas, delineou-se esta pesquisa visando contribuir para o conhecimento sobre a resposta imune inata de cabritos recém nascidos.

3 OBJETIVOS

- a) Avaliar a atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”.
- b) Avaliar a resposta dos PMNs frente a *S. aureus* e *E.coli*.
- c) Avaliar a influência do fator etário e de diferentes tipos de manejo colostrar sobre a atividade funcional dos PMNs.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo, descrevem-se os materiais e a metodologia utilizados no presente estudo, que avaliou a atividade funcional de PMNs, no sangue de cabritos neonatos, distribuídos em quatro grupos experimentais, submetidos a diferentes manejos de colostro.

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 32 caprinos, machos e fêmeas, da raça Saanen, nascidos de cabras pertencentes ao Setor experimental da Clínica de bovinos e pequenos ruminantes do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo; e a criatórios próximos à capital de São Paulo.

Com a finalidade de facilitar o manejo dos neonatos, decidiu-se concentrar os partos, realizando a sincronização do cio das cabras matrizes, após verificação da ausência de prenhez por exame ultrassonográfico. Para isso foi utilizado o protocolo descrito por Traldi (1985).

A prenhez dos animais foi confirmada mediante exame ultrassonográfico realizado 15 e 30 dias após a separação das fêmeas dos machos, sendo os partos acompanhados conforme a data estimada.

4.2 SELEÇÃO E MANEJO DOS CABRITOS

Os animais neonatos selecionados para constituir os grupos experimentais foram separados das mães imediatamente após o parto, evitando-se a ingestão de colostro para a realização do controle clínico-laboratorial pré-mamada do primeiro leite. Na sequência, dependendo do grupo, foi fornecido colostros obtido de um banco de colostro da primeira e segunda ordenha pós parto, de cabras negativas para o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) no teste de imunodifusão em ágar gel (IDAG) ou de vacas híginas, ou ainda leite de

cabra. Os recém nascidos receberam os cuidados habituais recomendados no período imediato pós-parto, particularmente a secagem corpórea e a cura do umbigo com solução de iodo a 2%. Foram submetidos à avaliação do peso vivo ao nascer, exame físico geral com análise das funções vitais, de forma a excluir-se cabritos nascidos com anomalias congênitas ou sintomas de doenças imediatas ao nascimento. Após os cuidados iniciais e seleção dos animais, estes foram distribuídos aleatoriamente pelos quatro grupos experimentais a serem utilizados na pesquisa, descritos adiante.

Durante o período experimental os animais foram avaliados diariamente por meio de exame físico que incluiu as seguintes análises: estado geral, funções vitais (frequências respiratória e cardíaca, e temperatura corpórea), hidratação, mucosas aparentes, características das fezes e acompanhamento do processo de cicatrização umbilical (PUGH, 2004). Os critérios para avaliação do estado geral, da hidratação e das características das fezes (escore fecal) são apresentados no quadro 1.

Os cabritos foram mantidos em baias com livre acesso à fonte de água, sendo alimentados com colostro e/ou leite fornecido em mamadeira, além de feno e ração oferecidos em cocho, de forma a acelerar o desenvolvimento dos pré - estômagos e propiciar o desmame.

Durante o experimento os cabritos foram pesados nos seguintes momentos: ao nascimento, cinco, 10, e 15 dias pós-nascimento (p.n.). Os animais que adoeceram durante o experimento foram tratados conforme a enfermidade diagnosticada.

4.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os 32 animais neonatos previamente selecionados constituíram quatro grupos experimentais, cada um com oito animais, conforme a descrição a seguir:

GRUPO 1 (G1): os cabritos deste grupo receberam colostro de cabra “in natura”, de primeira e segunda ordenha pós parto, nos dois primeiros dias p.n, divididos em duas alimentações diárias de 250 ml cada, perfazendo um volume total de 500 ml/dia, com a primeira ingestão em até 6 horas p.n. Nos dias subseqüentes passaram a receber leite de cabra em quantidade

equivalente a 10% do peso vivo, em cada uma das duas alimentações diárias fornecidas em mamadeiras.

GRUPO 2 (G2): os neonatos deste grupo receberam colostro de cabra, de primeira e segunda ordenha pós parto, aquecido a 56° C por 60 minutos, conforme utilizado por Silva (2005), nos dois primeiros dias p.n, em duas alimentações diárias de 250 ml cada, perfazendo um volume total de 500 ml/dia, com a primeira ingestão em até 6 horas p.n. Nos dias subseqüentes passaram a receber leite de cabra conforme descrito no grupo G1.

GRUPO 3 (G3): os neonatos deste grupo receberam colostro “in natura” de vaca hígida, de primeira e segunda ordenha pós parto, nos dois primeiros dias p.n, em duas alimentações diárias de 250 ml cada, perfazendo um volume total de 500 ml/dia, com a primeira ingestão em até 6 horas p.n.. Nos dias subseqüentes passaram a receber leite de cabra conforme descrito no grupo G1.

GRUPO 4 (G4): os neonatos deste grupo não receberam colostro de cabra ou de vaca, sendo alimentados exclusivamente com leite de cabra, conforme o critério de fornecimento do leite estabelecido para os animais do grupo 1.

	Estado geral (grau de depressão clínica)	Estado de hidratação	Característica das fezes (escore Fecal)
0	normal (ativo, alerta, em estação e mama com vigor)	normal (olhos brilhantes e com turgor de pele)	normal (fezes bem formadas/ cibalas soltas ou aglomeradas)
1	leve (animal ativo mas mama não vigorosamente)	leve desidratação: (turgor de pele levemente reduzido, perda de peso de 6 a 8%)	anormal (fezes tendendo a pastosas, cibalas aglomeradas e moles, mas ainda não caracterizando diarreia)
2	moderado (animal ainda fica em estação, mas a sugação é lenta e desorganizada)	moderada desidratação (globo ocular levemente retraído, diminuição evidente do turgor de pele, mucosa oral seca, perda de peso entre 8 a 10 %)	fezes pastosas, com cibalas ausentes (diarreia moderada)
3	intenso (animal deprimido, incapaz de mamar e ficar em estação).	intensa desidratação (globo ocular bem retraído, diminuição acentuada do turgor de pele, focinho e cavidade oral frios, mais de 10 % de perda de peso corporal)	fezes tendendo a líquida a francamente líquida (diarreia intensa)

Quadro 1 – Critérios para a avaliação do estado geral (grau de depressão clínica), estado de hidratação e características das fezes (escore fecal), adaptado de Walker et al. (1998) - São Paulo – 2008 a 2009

4.4 COLHEITA DE SANGUE

Foram colhidas amostras de sangue por punção da veia jugular externa em tubos com sistema a vácuo sem anticoagulante, com EDTA e com heparina. As amostras colhidas em tubos secos após a cinerese foram centrifugadas a 3500 rpm por 15 minutos para separação do soro, sendo o mesmo armazenado em alíquotas para análises posteriores. As amostras colhidas nos tubos com EDTA foram destinadas à avaliação do leucograma, realizada imediatamente após a colheita. Aquelas dos tubos heparinizados foram colocadas imediatamente em banho de gelo (MASSOCO-SALLES GOMES, 2003), sendo destinadas à análise, por citometria de fluxo, da atividade funcional de polimorfonucleares (PMNs) em até quatro horas após a colheita (SMITS; BURVENICH; HEYNEMAN, 1997).

Para avaliação da influência dos diferentes tipos de manejo colostrar, as características das respostas dos PMNs frente a *S. aureus* e *E.coli* e a influência do fator etário na atividade funcional de PMNs do sangue dos cabritos neonatos “in vitro” foram realizadas colheitas de sangue nos seguintes momentos antes (t0) ou após (tempos 1, 2,3 e 4) a ingestão de colostro ou leite:

- Tempo 0 – t0 (zero): antes da ingestão de colostro ou leite
- Tempo 1 – t1 (1-2d): até 48 horas p.n.
- Tempo 2 – t2 (3-4d): de 72 h até 96 horas p.n.
- Tempo 3 – t3 (7-8d): de 168 h até 192 horas p.n.
- Tempo 4 – t4 (14-15d): de 336 h até 360 horas p.n.

4.5 REAGENTES PARA AVALIAÇÃO FUNCIONAL DOS PMNS

Serão descritos a seguir os procedimentos utilizados para a preparação dos reagentes para avaliação funcional dos PMNs.

a) *Preparação das Cepas de Staphylococcus aureus (S. aureus) e de Escherichia coli (E. coli) marcadas com Iodeto de Propídeo (PI)*

O *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923) e a *Escherichia coli* (cepa O98:H28) marcados com Iodeto de propídeo (PI) (Sigma, St Louis, MO) utilizados para se analisar a atividade de fagocitose de neutrófilos do sangue de cabritos e como estímulo para desencadear a produção de peróxido de hidrogênio e o metabolismo oxidativo, foram preparadas segundo adaptação do protocolo utilizado na rotina do Laboratório de Farmacologia do Departamento de Patologia da FMVZ da Universidade de São Paulo. Em resumo o protocolo foi constituído dos seguintes passos:

1. As bactérias foram semeadas em meio de cultura;
2. Após crescimento das colônias realizou-se o recolhimento das bactérias com o auxílio de um swabe em tubo falcon de 15 ml contendo 10ml de solução salina a 0,9%;
3. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 2500 rpm e colocadas em banho-maria a 60°C para inativação da bactéria;
4. O sobrenadante foi desprezado e o “pellet” foi ressuspensão em 10ml de salina a 0,9%. Este processo de centrifugação foi repetido por mais duas vezes;
5. Os “pellets” resultantes da última lavada foram ressuspensos em 2,5 ml de salina 0,9%;
6. Em seguida o material de todos os tubos foi reunido formando um “pool” para obter homogeneidade no preparo;
7. A absorbância das amostras foi medida em comprimento de onda de 620nm, devendo apresentar valor entre 2,2 e 3,0. Obteve-se um valor próximo a 2,7 que corresponde ao número 9 da escala Mc Farland;

8. Acertada a absorbância o material foi transferido em alíquotas aos tubos para nova centrifugação;
9. O sobrenadante foi desprezado e as bactérias foram conjugadas com iodeto de propídeo a 5%. Para tal, foram diluídas 100mg de iodeto de propídeo em 2ml de PBS homogenizados e conjugados por 30 minutos em ausência de luz;
10. O “pellet” corado foi ressuspense em 10ml de solução salina a 0,9% e centrifugado (10min-2500rpm). Este processo foi repetido por mais duas vezes;
11. Finalmente as amostras de cada tubo foram ressuspensas com 10ml de PBS glicosado, homogenizadas, protegidas da luz com papel laminado e armazenadas em freezer a -80°C.

b) *Solução de diacetato 2'7' diclorofluoresceína (DCFH-DA):*

A solução de Diacetato 2'7' diclorofluoresceína (DCFH-DA/Molecular Probes, Eugene, OR) foi empregada para se determinar a produção de peróxido de hidrogênio basal e estimulada. Este reagente foi mantido congelado (-20°C) e protegido da luz. No momento do uso, a solução estoque (25mM diluída em etanol) foi diluída em solução salina tamponada de fosfato (PBS) de forma que o volume final desta solução fosse o suficiente para realizar o experimento (MASSOCO-SALLES GOMES, 2003; SILVA, 2003).

c) *Solução de EDTA e de PBS:*

O preparo das soluções de EDTA 3mM, da salina em diferentes concentrações e do PBS utilizadas neste experimento seguiu o protocolo descrito por Silva (2003).

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNCIONAL DOS POLIMORFONUCLEARES (PMNS)

Descrevem-se a seguir os procedimentos adotados para a avaliação da atividade funcional dos PMNs, a saber: análise do metabolismo oxidativo e da fagocitose, estimulados por *S.aureus* e *E.coli*.

4.6.1 Análise do Metabolismo Oxidativo

Para a análise do metabolismo oxidativo de polimorfonucleares (PMN) do sangue de cabritos neonatos “in vitro”, foi utilizado o método proposto por Massoco-Salles Gomes (2003). Os estímulos utilizados para desencadear o metabolismo oxidativo de neutrófilos foram as cepas de *S. aureus* e de *E.coli* marcadas com Iodeto de propídeo (PI) conforme descrito anteriormente no item 4.5 a.

a) Estímulo com *S. aureus* marcado com Iodeto de propídeo (PI)

Em um tubo de polipropileno foram adicionados 100 µl de sangue total heparinizado, 200 µl de DCFH – DA (0,3 mM) e 50 µl da suspensão de *S.aureus* marcada com PI e PBS q.s.p. 1 ml.

b) *Estímulo com E.coli marcada com Iodeto de propídeo (PI)*

Em um tubo de polipropileno foram adicionados 100µl de sangue total heparinizado, 200µl de DCFH-DA (0,3mM) e 50µl da suspensão de *E.coli* marcada com PI e PBS q.s.p. 1ml.

4.6.2 Análise da Fagocitose

A análise da fagocitose foi efetuada pelo método proposto por Hasui, Hirabayashi e Kobayashi (1989) e Massoco–Salles Gomes (2003), utilizando-se cepas de *S. aureus* e *E.coli* marcadas com PI.

a) *Fagocitose estimulada com S. aureus marcado com PI*

Em um tubo de polipropileno foram adicionados 100 µl de sangue total heparinizado, 50µl da suspensão de *S.aureus* marcado com PI e PBS q.s.p. 1 ml.

b) *Fagocitose estimulada com E.coli marcada com PI*

Foram adicionados em um tubo de polipropileno 100 µl de sangue total heparinizado, 50 µl da suspensão de *E.coli* marcada com PI e PBS q.s.p. 1 ml.

No quadro 2, a seguir, apresenta-se exemplo da preparação de bateria de tubos para estudo da atividade funcional de PMNs (metabolismo oxidativo basal e estimulado, e fagocitose).

Tubo	Sangue total	DCFH-DA	<i>S. aureus</i>	<i>E.coli</i>	PBS
A - (Controle negativo)	100µl				900µl
B - (Metabolismo oxidativo basal)	100µl	200µl			700µl
C - (Metabolismo induzido <i>S. aureus</i>)	100µl	200µl	50µl		650µl
D - (Fagocitose <i>S.aureus</i>)	100µl		50µl		850µl
E - (Metabolismo induzido <i>E.coli</i>)	100µl	200µl		50µl	650µl
F - (Fagocitose <i>E.coli</i>)	100µl			50µl	850µl

Quadro 2 - Exemplo da preparação de uma bateria de tubos utilizados para avaliar a atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos “in vitro” - São Paulo - 2008 a 2009

4.6.3 Mensuração do Metabolismo Oxidativo e da Fagocitose

As amostras de sangue estimuladas (por cepas de *E.coli* ou de *S. aureus* marcadas com PI) foram incubadas em estufa durante 30 minutos com temperatura controlada a 37°C, sendo agitadas a cada 10 minutos. As reações foram interrompidas pela adição de 2,0 ml de solução gelada de EDTA (3mM) e centrifugadas por 10 minutos a 1200rpm, sendo os eritrócitos removidos dos botões de leucócitos do sangue periférico por lise hipotônica, por meio do contato com uma solução estéril de NaCl a 0,2% (2,0 ml) durante 20 segundos. Imediatamente após a hemólise foi adicionada uma solução estéril de NaCl 1,6% (2,0 ml) em cada amostra para restaurar a isotonicidade. A seguir as amostras foram novamente centrifugadas e a lise repetida. Os botões celulares foram ressuspensos, adicionando-se aos tubos 500 µl PBS gelado para análise no citômetro de fluxo (SÁ-ROCHA, 2006).

4.6.4 Leitura das amostras no Citômetro de Fluxo

A leitura das amostras foi realizada no citômetro de fluxo (Facsan Calibur Becton Dickinson Immunocytometry System, San Jose, CA, USA) conectado a computador (Macintosh Apple, CA, USA) utilizando o software Cell Quest (Becton Dickinson Immunocytometry System, San Jose, CA, USA) do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Na leitura foram adquiridos e analisados 10.000 eventos de cada amostra. Os polimorfonucleares do sangue foram identificados conforme as características de tamanho (FSC) e complexidade interna da célula (SSC). A atividade funcional dos polimorfonucleares (PMNs) do sangue dos cabritos neonatos "in vitro", metabolismo oxidativo e fagocitose foram medidas pela intensidade de fluorescência média obtida para cada um dos estímulos utilizados. Os resultados de fluorescência foram gravados em uma escala logarítmica. A fluorescência verde obtida após a oxidação do DCFH em DCF foi mensurada a 530±30 nm (FL1) e a fluorescência vermelha das bactérias (*S. aureus* e *E.coli*) marcadas com PI foi medida a 585±42 nm (FL2).

Os valores referentes aos resultados do metabolismo oxidativo basal e induzido pelos diferentes estímulos foram estimados pela média geométrica da intensidade de fluorescência emitida pelos polimorfonucleares.

A magnitude de fagocitose (quantidade de bactérias fagocitadas) foi registrada pelo valor da média geométrica da intensidade de fluorescência emitida pela população de neutrófilos do sangue, frente a cada uma das bactérias utilizadas para desencadear o processo. O percentual de neutrófilos que fagocitaram o *S. aureus* ou a *E.coli* marcadas com PI foi obtido através do número de polimorfonucleares fluorescentes sobre o número total de células multiplicadas por 100, segundo a fórmula:

$$\text{Porcentagem de fagocitose} = \frac{\text{Número de PMNs que fagocitaram}}{\text{Número total de PMNs}} \times 100$$

Os valores gerados no citômetro foram analisados com auxílio do “software” para análise de dados de citometria CelQuestPro.

4.7 EXAMES COMPLEMENTARES

Exames complementares foram necessários para a garantia da qualidade do experimento e gerar informações adicionais sobre o estado de saúde dos recém-nascidos. A seguir são descritos os procedimentos adotados para a análise dos dados de cortisol, proteinograma, imunoglobulinas (IgG, IgM), gamaglutamiltransferase (GGT) e leucograma.

4.7.1 Cortisol

Para a determinação dos teores plasmáticos de cortisol foi utilizado o kit comercial Coat A count®. A dosagem foi determinada com um radioimunoensaio em fase sólida, no

qual o cortisol marcado com ^{125}I competiu, durante um período fixo de tempo, por locais de fixação de anticorpos com o cortisol da amostra. Como o anticorpo permaneceu na parede do tubo de polipropileno, a decantação do sobrenadante foi suficiente para determinar a competição e isolar a fração ligada ao anticorpo de cortisol radiomarcado. A contagem do tubo em contador gama gerou um número, o qual se converteu pela curva de calibração na quantidade de cortisol presente na amostra.

4.7.2 Proteinograma

As proteínas totais em g/dl foram quantificadas em analisador bioquímico automático (Modelo Liasys marca AMS) utilizando-se o método do biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949). O fracionamento eletroforético das proteínas séricas foi realizado em fitas de acetato de celulose (FEITOSA, 1998; BORGES et al., 2001; LEAL et al., 2003).

4.7.3 Quantificação das imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM)

A avaliação quantitativa das imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) em mg/dl foram determinadas pela prova de imunoadsorção enzimática indireta (ELISA) conforme Kit comercial Bethyl. Foram utilizadas placas com 96 poços, nas quais foram adicionados 100µl de anticorpo purificado de revestimento em cada poço, incubados por uma hora em temperatura ambiente. Após a incubação foi promovida a lavagem, e repetido o processo três vezes. Após esta fase foram adicionados 200µl de Solução de bloqueio (Blocking Solution) em cada poço, incubados por 30 minutos em temperatura ambiente. Após a incubação de bloqueio foi promovida a lavagem (solução de lavagem) por mais três vezes. A diluição para estabelecimento da curva (de sete pontos) tanto para IgG como para IgM seguiram as recomendações do fabricante, sendo colocados 100 µl em duplicata nos poços da placa (14 poços). As amostras foram diluídas utilizando uma proporção que variou de 1:50 até 1:10000. Realizadas as diluições das amostras, colocou-se 100 µl de cada uma delas, em duplicata nos

poços, duas a duas. A placa foi então deixada para incubação em câmara úmida a uma temperatura de 37°C por 1 hora. Após este período, a placa foi lavada três vezes.

Finalmente foi colocado 100 µl do HRP (segundo antígeno) de detecção de anticorpo, diluído 1:100000, em cada um dos poços, deixando-se incubar a temperatura de 37°C por 1 hora, em câmara úmida. Após esta incubação promoveu-se três lavagens. Após esta lavagem adicionou-se 100 µl do TMB (solução de substrato) em cada um dos poços, mantido em local escuro por 15 minutos, de forma a permitir que a reação enzimática de cores ocorresse. Após este período, a reação foi interrompida com solução de parada (“stop solution”). A leitura foi realizada em leitor de ELISA calibrado com a absorbância de 450nm (adaptação do protocolo do fabricante Bethyl®)

4.7.4 Gamaglutamiltransferase (GGT)

A taxa de gamaglutamiltransferase (GGT) sérica em UI/L foi determinada pelo método cinético colorimétrico (baseado na ação catalítica da GGT sobre a L-gama-glutamil-3-carboxi-4-nitranilida e glicilglicina dando origem a L-gama-glutamilglicina e 5-amino-2-nitrobenzoato) com kit comercial segundo técnica modificada de Szasz (1969) em analisador bioquímico automático modelo RA-100 em comprimento de onda de 405 nm.

4.7.5 Leucograma

Para a determinação dos componentes do leucograma foi realizada a macrodiluição para a contagem total dos leucócitos em hemocitômetro e a contagem diferencial foi efetuada em lâminas de esfregaço sangüíneo coradas pelo Método de Rosenfeld e a leitura realizada utilizando microscópio óptico com objetiva de imersão e aumento de 1000x, sendo identificados e contados 100 leucócitos, conforme técnica preconizada por Birgel (1982).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Para a comparação entre as médias dos resultados da avaliação da atividade funcional dos PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”, metabolismo oxidativo e fagocitose, em cada um dos grupos experimentais (G1, G2, G3, e G4) e a influência da idade e de diferentes manejos de colostro, bem como os resultados obtidos dos exames complementares foi utilizado o método de análise de variância (ANOVA). Inicialmente, utilizaram-se os testes de Levine e Qui-quadrado de Bartlet para identificar o melhor teste para múltiplas comparações, paramétrico ou não. No caso das distribuições paramétricas, a ANOVA foi complementada pelo teste de Tukey com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), (BERQUÓ; SOUZA; GOTLIE, 1981; ZAR, 1984); e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, nas demais situações (ZAR, 1984). Uma análise descritiva da ocorrência de enfermidades foi realizada. Os dados foram analisados com utilização de programa estatístico Stats Direct Statiscal Software, version 2,6,6.

5 RESULTADOS

Os animais durante o período experimental foram avaliados diariamente por meio de observações clínicas e de exame físico que incluíram as seguintes análises: ganho de peso, estado geral (depressão clínica), funções vitais (frequências respiratória e cardíaca, e temperatura corpórea), hidratação, mucosas aparentes, características das fezes (escore fecal) e acompanhamento do processo de cicatrização umbilical.

Os animais foram pesados ao nascimento, cinco, dez e quinze dias de vida, observando-se um peso médio de 3,16 kg ao nascer, e um ganho médio de peso dos animais de 1,20 kg no momento do término do experimento, ou seja, no décimo quinto dia de vida.

Considerando o estado geral dos animais, observou-se que ao exame físico apenas um animal do grupo 3 (que mamou colostro de vaca “in natura”) apresentou alteração caracterizando leve grau de depressão clínica em um único momento. Em relação ao estado de hidratação as alterações foram discretas, notando-se que alguns animais apresentaram leve desidratação (dos grupos 1 e 4, dois animais; do grupo 2, um animal e do grupo 3, três animais). Apesar destas observações, de forma geral os animais destes grupos apresentavam-se alertas, com reflexo de sugação adequado.

Em relação ao escore fecal, no grupo 1 três animais apresentaram alterações, durante o período experimental, caracterizando diarreia de moderada a intensa. Dentre os animais do grupo 2, sete animais evidenciaram fezes com características de diarreia moderada no tempo t4, em cinco dos neonatos. Dos animais do grupo 3, sete recém nascidos apresentaram alterações fecais durante o estudo, com caracterização de diarreia moderada a intensa. Dentre os animais do grupo 4, três neonatos apresentaram modificações no escore fecal caracterizando diarreia intensa com fezes líquidas no período até 48h p.n.. Somente em dois animais do grupo 3 pode-se verificar simultaneamente desidratação com quadro de diarreia.

O umbigo de todos os animais foi tratado com iodo a 2% durante os cinco primeiros dias p.n., não se observando alterações inflamatórias no processo de cicatrização umbilical dos animais dos grupos 1, 2 e 3. Dentre os cabritos do grupo 4, um apresentou espessamento umbilical com demora no secamento do cordão umbilical.

Dos grupos 1 e 2 foram substituídos quadro animais dos quais um apresentava anemia ao nascer, outro apresentava má formação (dextrocardia) e os dois restantes morreram devido a edema pulmonar. Do grupo 4 foram excluídos cinco animais dos quais dois não puderam ser utilizados no experimento e os outros três morreram devido a septicemia.

Os animais que apresentaram diarreia devido à ingestão de leite foram tratados com Curacurso - Antidiarréico[®], carvão ativado e caulin. Os animais que apresentaram diarreia e sintomas associados a doenças respiratórias foram tratados com Enrofloxacin (kinetomax[®]), por via IM, com dose adequada (0,075ml por quilo de peso, repetida se necessário após 72 horas).

Nas tabelas e gráficos de 1 a 3 são apresentados os valores das médias e desvios-padrão e comportamento de variação, respectivamente, da temperatura corporal, e das frequências de batimentos cardíacos e de movimentos respiratórios, dos animais dos quatro grupos experimentais de acordo com a evolução etária.

A temperatura corporal (°C) (Tabela 1 e Gráfico 1) não apresentou diferenças significantes entre grupos em cada tempo e com a evolução da idade em cada grupo, com exceção do grupo 4 em que a temperatura inicial (t0) foi menor do que as aferidas nos tempos t3 e t4. A frequência dos batimentos cardíacos (bpm) nos grupos estudados não apresentou variação significativa com a evolução da idade, porém ocorreram valores significativamente maiores no tempo t0 do G4 em relação aos de G2 e no tempo t3 do G4 em relação aos demais grupos (Tabela 2 e Gráfico 2). A frequência dos movimentos respiratórios (mpm) não apresentou diferenças significativas entre os grupos em cada tempo e nem com a evolução da idade em cada grupo (Tabela 3 e Gráfico 3).

Tabela 1 - Valores médios e desvios - padrão da temperatura corporal (°C) de cabritos neonatos que receberam colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” G3 e somente leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Temperatura Corporal (°C)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	39,5±0,32aA*	39,1±1,01aA	38,9 ±0,99aA	39,4 ±0,32abA
T1 (até 48 hs p.n.)	39,3±0,30aA	39,5±0,54aA	39,3 ±0,29aA	39,0 ±0,50aA
T2 (72h-96hs p.n.)	39,5±0,56aA	39,3±0,52aA	39,4 ±0,56aA	39,4 ±0,38abA
T3 (168-192hs p.n.)	39,5±0,37aA	39,7 ±0,32aA	39,5 ±0,38aA	39,6 ±0,30bA
T4 (336-360hs p.n.)	39,4±0,64aA	39,6 ±0,37aA	39,2 ±0,80aA	39,6 ±0,34bA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05);
letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 1 - Valores médios da temperatura corporal (°C) de cabritos recém nascidos, segundo o tipo de colostro e leite ingerido (colostro de cabra “in natura”- G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “ in natura” – G3 ou somente leite – G4) e a evolução da idade – São Paulo –2008 a 2009

Tabela 2 - Valores médios e desvios - padrão da frequência de batimentos cardíacos por minuto (bpm) de cabritos neonatos que receberam colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e somente leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Frequência Cardíaca (bpm)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	200,0±25,75aAB*	174,0 ±42,98aA	197,5 ±30,61aAB	224,5 ±30,94aB
T1 (até 48 hs p.n.)	200,5 ±23,95aA	166,0 ±33,53aA	171,5 ±39,62aA	170,5 ±47,03aA
T2 (72h-96hs p.n.)	183,5±28,16aA	129,0 ±37,63aB	180,3 ±29,40aA	160,5 ±53,39aAB
T3 (168-192hs p.n.)	176,2±20,13aA	145,0 ±36,08aA	152,5 ±39,91aA	212,0 ±54,93aB
T4 (336-360hs p.n.)	193,5±40,90aA	151,5 ±49,57aA	151,3 ±25,25aA	196,0 ±42,71aA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$);
letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 2 - Valores médios da frequência de batimentos cardíacos por minuto (bpm) de cabritos recém nascidos, segundo o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” – G3 ou somente leite – G4) e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Tabela 3 - Valores médios e desvios padrão da frequência de movimentos respiratórios por minuto (mpm) de cabritos neonatos que receberam colostro de cabra “in natura” -G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “ in natura” - G3 e somente leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Frequência Respiratória (mrm)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	51,4 ±10,35aA*	63,0 ±22,90aA	58,5 ±25,92aA	51,3 ±15,64aA
T1 (até 48 hs p.n.)	45,13 ±9,20aA	62,5 ±18,51aA	54,0 ±19,83aA	51,5 ±11,60aA
T2 (72h-96hs p.n.)	39,5 ±7,54aA	47,5 ±18,32aA	55,3 ±14,92aA	49,5 ±12,46aA
T3 (168-192hs p.n.)	40,5 ±13,08aA	51,5 ±15,48aA	46,0 ±6,23aA	46,0 ±14,81aA
T4 (336-360hs p.n.)	42,0 ±9,32aA	50,0 ±12,83aA	50,3 ±12,12aA	46,0 ±14,18aA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$), letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 3 - Valores médios da frequência de movimentos respiratórios por minuto (mpm) de cabritos recém nascidos, segundo o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura”- G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura”- G3 ou somente leite - G4) e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

5.1 ATIVIDADE FUNCIONAL DE NEUTRÓFILOS POLIMORFONUCLEARES (PMNS) DO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS “IN VITRO”

Os resultados da análise da atividade funcional de neutrófilos polimorfonucleares do sangue de cabritos recém nascidos “in vitro” são apresentados em dois blocos, no primeiro, o metabolismo oxidativo e no segundo os resultados da fagocitose de cada um dos grupos estudados.

Primeiramente, serão mostrados os dados referentes ao metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”, não estimulados e estimulados por *S. aureus* e *E. coli*. Em seguida serão apresentados os resultados obtidos na análise da atividade de fagocitose dos PMNs do sangue de cabritos recém nascidos segundo o estímulo ou não dado pelas supra referidas bactérias, considerando nesta análise a intensidade de fluorescência das células e o percentual de PMNs em fagocitose.

No apêndice, nas figuras 1 a 18 estão, apresentados exemplos de citogramas referentes à análise da população de PMNs de cabritos recém nascidos submetidos a diferentes manejos de colostro, sendo possível observar o tamanho das células (FSC) e complexidade interna por granulosidade (SSC).

5.1.1 Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 1 (G1)

Neste item são apresentados os resultados referentes à atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos que ingeriram colostro de cabra “in natura” (G1).

5.1.1.1 Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos “in vitro

A tabela 4 mostra os valores médios e desvios-padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos do G1 “in vitro”, incubados respectivamente com DCFH (solução de Diacetato 2`7`diclorofluoresceína), com DCFH + *S. aureus* e com DCFH + *E. coli*. Verificou-se que não houve diferença na intensidade de fluorescência relacionada à produção de radicais de oxigênio pelos PMNs não estimulados (metabolismo basal) nos diferentes momentos. Este fato se repetiu quando as células foram estimuladas pelas bactérias *S. aureus* e *E. coli* (Gráficos 4 a 6).

A comparação entre a resposta de PMNs não estimulados (metabolismo basal) e após cada um dos estímulos utilizados (*S. aureus* e *E. coli*, respectivamente), pode ser observada nos gráficos 7 e 8. O Gráfico 7 mostra um aumento significativo na intensidade de fluorescência quando as células foram incubadas com *S. aureus* nos tempos t0, t1 e t4. Utilizando-se da *E. coli* como estímulo observou-se variações, porém não significativas na intensidade de fluorescência, ou seja, o estímulo com *S. aureus* provocou uma melhor resposta até 2 dias p.n. (t1), para a seguir permanecer constante e aumentando aos 15 dias de vida p.n. (t4) em relação ao metabolismo basal. Entre três e oito dias de vida dos cabritos (t2 e t3) a *S. aureus* não foi um bom estímulo para o metabolismo oxidativo, enquanto a *E. coli* não foi uma boa indutora do metabolismo oxidativo em nenhum dos momentos testados (Gráfico 8).

Tabela 4- Valores das médias e desvios-padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos, “in vitro”, obtidos para do metabolismo oxidativo espontâneo (basal) (DCFH-DA- solução de diacetato 2’7’diclorofluoresceína) e estimulado pelo *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923) (DCFH + *S. aureus*), e pela *Escherichia coli* (cepa O98:H28) (DCFH + *E. coli*), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em animais que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
DCFH-DA	228,95 ±119,05A*	237,76 ± 96,72A	220,57 ±135,77A	302,60 ±202,40A	205,71 ±135,18A
DCFH + <i>S. aureus</i>	493,05 ±222,22A	506,19 ±263,21A	402,14 ±249,46A	553,92 ± 276,74A	435,90 ±250,71A
DCFH + <i>E. coli</i>	370,20 ± 252,60A	444,24 ±258,91A	360,52 ±162,83A	523,28 ±386,64A	412,89 ±289,79A

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 4 – Histograma mostrando a produção média espontânea de H_2O_2 - (DCFH), medida pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 5- Histograma mostrando os valores médios do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”, incubados com DCFH e *S. aureus* marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 6 - Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, incubados com DCFH e *E. coli* marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 7 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por *S. aureus* marcado com PI (DCFH + *S. aureus*), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009 (* $p < 0,05$ em relação ao metabolismo oxidativo basal)

Gráfico 8 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado com *E. coli* marcada com PI (DCFH + *E. coli*), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

5.1.1.2 Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”

A tabela 5 mostra os valores médios e desvios-padrão da atividade fagocítica dos PMNs do sangue de cabritos estimulados ou não por *S. aureus* e *E. coli*. A intensidade de fluorescência das células sanguíneas não estimuladas e após terem sido incubadas com *S. aureus* não apresentou diferenças estatísticas significantes nos tempos estudados (Tabela 6 e Gráfico 9). O percentual de fagocitose de PMNs do sangue estimulados pelo *S. aureus* apresentou valor máximo após a ingestão do colostro (76%) (t1), quando comparado aos valores de t3 e t4 (que ficaram ao redor de 50%). Portanto, pode-se dizer que a função dos PMN para *S. aureus*, neste grupo, independeu da ingestão do colostro (pois não houve diferenças entre t0 e os demais tempos), todavia a ingestão de colostro promoveu um aumento no percentual de fagocitose das células para *S. aureus* (Tabela 6 e Gráfico 10).

A intensidade de fluorescência dos PMNs, após terem sido incubados com *E. coli* foi maior e significativa após ingestão do colostro nos tempos t1 a t4 quando comparado ao tempo t0, ou seja, o colostro foi importante para estimular a fagocitose por *E. coli*. Analisando o percentual de fagocitose dos PMNs do sangue quando estimulados pela *E. coli* não se observaram diferenças significativas em nenhum dos tempos estudados, mesmo com a

verificação de um aumento da intensidade de fluorescência após a ingestão do colostro (t1) (Tabela 7 e Gráficos 11 e 12).

Notou-se que neste grupo de neonatos os PMNs apresentaram função independente da mamada do colostro quando se utilizou o *S. aureus* como estímulo, entretanto ao utilizar-se a *E. coli* notou-se ser fundamental e importante a ingestão do colostro para a opsonização da bactéria.

Tabela 5- Valores médios e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo *S. aureus* e pela *E. coli* marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1 – São Paulo – 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
Célula	20,82 ±2,14A*	31,89 ±15,10A	27,74 ±17,42A	45,31 ± 68,29A	23,87 ±10,92A
Célula + <i>S. aureus</i>	54,75 ±17,91A	66,04 ±16,24A	60,29 ± 20,23A	76,89 ±62,88A	53,27 ±19,92A
Célula + <i>E. coli</i>	39,01 ±18,39A	65,66 ±26,58B	75,03 ±26,31B	99,75 ±62,77B	93,94 ±54,92B

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Tabela 6 - Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela *S. aureus* marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1 - São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>S. aureus</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	54,75 ±17,91a*	65,20 ± 9,38ab
T1(n=8)	66,04 ±16,24a	76,36 ±12,58a
T2(n=8)	60,29 ± 20,23a	62,76 ±23,71ab
T3(n=8)	76,89 ±62,88a	52,60 ±17,42b
T4(n=8)	53,27 ±19,92a	49,54 ±16,96b

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas p<0,05)

Gráfico 9- Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por *S. aureus* marcado com PI, de cabritos que ingeriram colostro de cabra “in natura” – G1 e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 10 - Percentual de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulado por *S. aureus* marcado com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra “in natura” – G1 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009

Tabela 7 - Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela *E. coli* marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” - G1- São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>E. coli</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	39,01 ±18,39a*	40,79 ±15,32a
T1(n=8)	65,66 ±26,58b	54,97 ±14,75a
T2(n=8)	75,03 ±26,31b	55,27 ±13,32a
T3(n=8)	99,75 ±62,77b	40,76 ±17,49a
T4(n=8)	93,94 ±54,92b	39,90 ±16,16a

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas p<0,05)

Gráfico 11 - Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs estimulados por *E. coli* marcada com PI, de cabritos que ingeriram colostro de cabra “in natura”- G1 e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 12 - Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por *E. coli* marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra “in natura” – G1 (t1 a t4) e a evolução da idade- São Paulo - 2008 a 2009

5.1.2 Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 2 (G2)

Neste item são apresentados os resultados referentes à atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos que ingeriram colostro aquecido a 56°C por 60 minutos (G2).

5.1.2.1 Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”

A Tabela 8 mostra os valores médios e desvios-padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos do G2 “in vitro”, incubados respectivamente com DCFH (solução de Diacetato 2'7'diclorofluoresceína), DCFH + *S. aureus* e DCFH + *E. coli*. A produção de radicais de oxigênio pelos PMNs não estimulados entre os animais que receberam colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos não diferiram em relação aos diferentes momentos (Tabela 8 e Gráfico 13). Entretanto quando o metabolismo oxidativo dos neutrófilos foi estimulado pelo *S. aureus* e pela *E. coli* notou-se um aumento após a ingestão do colostro tendo valores máximos e significativos aos 7 a 8 dias p.n. (t3) que se mantiveram elevados até o décimo quarto e décimo quinto dias (t4) p.n. em relação ao tempo t0, ou seja, antes da ingestão de colostro (Tabela 8 e Gráficos 14 e 15).

A comparação entre a resposta de PMNs não estimulados (metabolismo basal) e após cada um dos estímulos usados (*S. aureus* e *E. coli*, respectivamente), medida pela intensidade de fluorescência destas células, estão demonstradas nos gráficos 16 e 17. A comparação entre os resultados do metabolismo basal e estimulado por *S. aureus* e *E. coli* mostrou diferença significativa na intensidade de fluorescência após t0, ou seja, após a ingestão do colostro (t1) houve um aumento da resposta das células, independente do estímulo bacteriano utilizado.

Tabela 8 - Valores das médias e desvios-padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos, “in vitro”, obtidos para o metabolismo oxidativo espontânea (basal)(DCFH-DA -solução de diacetato 2’7’diclorofluoresceína) e estimulado pelo *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923) (DCFH+ *S. aureus*), e pela *Escherichia coli* (cepa O98:H28) (DCFH+ *E. coli*), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos – G2, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
DCFH-DA	227,42 ± 167,16A*	287,84 ±180,16A	258,25 ±161,51A	310,29 ±216,73A	251,74 ±118,08A
DCFH+ <i>S. aureus</i>	361,17 ±194,76A	547,37 ±137,25AB	740,33 ±338,70AB	880,37 ±390,39B	820,08 ±303,99B
DCFH+ <i>E. coli</i>	371,81 ± 250,12A	546,52 ± 99,47AB	525,19 ±74,37AB	808,71 ±358,93B	746,29 ±209,94B

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 13 – Histograma mostrando a produção espontânea de H₂O₂ (DCFH), medida pela média geométrica da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, e a evolução da idade – São Paulo - 2008 a 2009

Gráfico 14 - Histograma mostrando os valores médios do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, incubados com DCFH e *S. aureus* marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 15 - Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, incubados com DCFH e *E. coli* marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo - 2008 a 2009

Gráfico 16 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por *S. aureus* marcado com PI (DCFH + *S. aureus*), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos - G2, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009 (*p < 0,05 em relação ao metabolismo oxidativo basal)

Gráfico 17 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por *E. coli* marcada com PI (DCFH + *E. coli*), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos, segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009 (* $p < 0,05$ em relação ao metabolismo oxidativo basal)

5.1.2.2 Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”

Nas tabelas 9 a 11 constam os valores médios e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade de fluorescência de PMNs e a porcentagem de fagocitose estimulados por *S. aureus* e por *E. coli* ao longo do tempo (G2). O *S. aureus*, provocou variações dos níveis da fagocitose, entretanto não foram observadas diferenças significativas na intensidade de fluorescência (Tabela 9), nem no percentual de fagocitose (Tabela 10), ou seja, para os PMNs fagocitarem o *S. aureus* não houve a necessidade da ingestão do colostro pelos animais (Gráficos 18 e 19). No estudo da atividade fagocítica estimulada por *E. coli* observou-se aumento da intensidade de fluorescência de PMNs após a ingestão do colostro (t1) que se manteve elevada durante todos os momentos do estudo (Tabela 9 e Gráfico 20). O percentual de fagocitose estimulada por *E. coli* apresentou diferença significativa após a ingestão do colostro (t1), ao redor de 70%, mostrando uma influência positiva da ingestão das imunoglobulinas do colostro para promover a fagocitose da *E. coli* (Tabela 11 e Gráfico 21).

Tabela 9 - Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo *S. aureus* e pela *E. coli* marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos – G2 - São Paulo - 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
Célula	27,06 ±10,95A*	44,92 ±19,53A	31,23 ±16,87A	41,01 ±27,75A	43,61 ±44,90A
Célula + <i>S. aureus</i>	60,80 ± 18,06A	98,23 ±32,08A	89,17 ±19,67A	91,92 ±30,47A	82,01 ± 44,32A
Célula + <i>E. coli</i>	64,95 ±19,97A	111,97 ±31,06B	108,87 ±25,01B	142,81 ±41,64B	139,93 ±82,88B

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Tabela 10 - Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pelo *S. aureus* marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56° C por 60 minutos - G2 - São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>S. aureus</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	60,80 ±18,06a*	72,47 ±13,99a
T1(n=8)	98,23 ±32,08a	82,17 ±13,27a
T2(n=8)	89,17 ±19,67a	72,98 ±20,60a
T3(n=8)	91,92 ±30,47a	71,55 ±13,05a
T4(n=8)	82,01 ±44,32a	71,54 ±12,50a

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas p<0,05)

Gráfico 18 - Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por *S. aureus* marcado com PI, de cabritos que ingeriram colostro aquecido a 56°C por 60 minutos – G2 e a evolução da idade –São Paulo- 2008 a 2009

Gráfico 19 - Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por *S. aureus* marcado com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos – G2 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009

Tabela 11 - Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela *E. coli* marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido à 56° C por 60 minutos - G2 - São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>E. coli</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	64,95 ±19,97a*	44,52 ±19,78a
T1(n=8)	111,00 ±33,42b	69,61 ±12,73b
T2(n=8)	107,06 ±26,44b	58,12 ±16,05ab
T3(n=8)	142,81 ±41,64b	65,03 ±20,84ab
T4(n=8)	139,93 ±82,88b	67,30 ±16,84ab

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas p<0,05)

Gráfico 20 - Fagocitose de leucócitos PMNs, estimulados por *E. coli* marcada com PI, medida pela intensidade de fluorescência de cabritos que ingeriram colostro aquecido a 56°C por 60 minutos – G2 e a evolução da idade – São Paulo- 2008 a 2009

Gráfico 21 - Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por *E. coli* marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de cabra aquecido à 56°C por 60 minutos – G2 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009

5.1.3 Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 3 (G3)

Neste item são apresentados os resultados referentes à atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos que ingeriram colostro de vaca “in natura” (G3).

5.1.3.1 Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”

Na tabela 12, são mostrados os valores médios e desvios - padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos do G3 “in vitro” incubados respectivamente com DCFH, DCFH + *S. aureus* e DCFH + *E. coli*.

No gráfico 22 apresenta-se o comportamento do metabolismo oxidativo basal de PMNs, que não diferiu em nenhum dos tempos estudados. No gráfico 23 pode ser verificado que o metabolismo oxidativo induzido por *S. aureus*, não aumentou após a ingestão do colostro, ou seja, neste grupo não se observa a influência da ingestão do colostro sobre o metabolismo oxidativo quando estimulado por essa bactéria. Entretanto ao se observar o metabolismo oxidativo induzido por *E. coli*, notou-se uma diminuição significativa no tempo t2 em relação aos valores do tempo t0 e t1 (Tabela 12 e Gráfico 24). Neste grupo foi interessante notar que os valores do metabolismo oxidativo basal e estimulado por *S. aureus* também foram de menores magnitudes no tempo t2. É possível que neste grupo tenha ocorrido alguma interferência sendo necessários estudos adicionais. Nos gráficos 25 e 26 são mostradas as comparações entre as respostas de PMNs não estimulados (metabolismo basal) e após os estímulos utilizados (*S. aureus* e *E. coli*), medidas pela média da intensidade de fluorescência destas células.

A comparação entre as respostas de PMNs não estimulados (metabolismo basal) e após o estímulo por *S. aureus* medidas pela média da intensidade de fluorescência destas células, mostrou um aumento do metabolismo oxidativo após a ingestão de colostro (t1) que permaneceu maior até t3 (2 a 8 dias p.n.). A comparação entre o metabolismo basal e o estimulado por *E. coli* foi maior de t0 a t4 e independente da ingestão do colostro.

Tabela 12- Valores das médias e desvios - padrão da intensidade de fluorescência obtidos na análise do metabolismo oxidativo espontâneo (basal) (DCFH-DA- solução de diacetato 2',7'-diclorofluoresceína) de PMNs do sangue de cabritos, "in vitro", e estimulados pelo *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923) (DCFH+ *S. aureus*), e pela *Escherichia coli* (cepa O98:H28) (DCFH+ *E. coli*), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em animais que ingeriram colostro de vaca "in natura"- G3, segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
DCFH-DA	151,43 ±75,51A*	158,74 ±54,03A	130,66 ±36,91A	146,10 ±90,57A	128,74 ±101,46A
DCFH+ <i>S. aureus</i>	301,93 ±174,33A	315,60 ±193,46A	229,95 ±74,10A	323,43±134,28A	222,27 ±91,78A
DCFH+ <i>E. coli</i>	367,52 ±255,08A	397,89 ±192,57A	193,62 ±74,20B	317,35 ±174,92AB	255,39 ±108,75AB

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 22 - Produção média espontânea de H₂O₂- (DCFH), medida pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura”- G3, conforme a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 23 - Histograma mostrando os valores médios e desvios –padrão do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “ in natura”- G3, incubados com DCFH e *S. aureus* marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 24 - Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura”- G3, incubados com DCFH e *E. coli* marcado com PI e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 25 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por *S. aureus* marcado com PI (DCFH + *S. aureus*), medidos pela intensidade de fluorescência em animais que ingeriram colostro de vaca “in natura” - G3 segundo a idade –São Paulo- 2008 a 2009 (* $p < 0,05$ em relação ao metabolismo oxidativo basal)

Gráfico 26 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulados por *E. coli* marcada com PI (DCFH + *E. coli*), medidos pela intensidade de fluorescência em animais que ingeriram colostro de vaca “in natura”– G3 segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009 (* $p < 0,05$ em relação ao metabolismo oxidativo basal)

5.1.3.2 Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos “in vitro”

A tabela 13 mostra os valores médios e desvios-padrão da atividade fagocítica medida pela intensidade de fluorescência de PMNs estimulados por *S. aureus*, e pela *E. coli*, onde não se observou diferença estatística significativa entre os tempos, indicando que não houve influência da ingestão do colostro para estimular a fagocitose. Em relação ao percentual de fagocitose (Tabelas 14 e 15) para as duas bactérias não se observaram diferenças significativas, ou seja, a ingestão do colostro não contribuiu para o aumento da fagocitose (Gráficos 27 a 30). Entretanto, observou-se que houve um aumento no tempo t3, ao se utilizar a *S. aureus* como estímulo (de 39,98% para 62,38%). Em relação à *E. coli* observou-se aumento em t1 (de 34,84% para 50,04%), queda em t2 (para 36,79%), comportamento semelhante ao constatado para metabolismo oxidativo (DCFH), e depois novo aumento em t3 (para 51,7%).

Tabela 13 - Valores médios e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo *S. aureus* e pela *E. coli* marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram colostro de vaca “in natura”- G3 – São Paulo – 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
Célula	26,54 ±10,48A*	25,67 ±15,83A	21,68 ±14,41A	30,23 ±13,15A	19,67 ±6,70A
Célula + <i>S. aureus</i>	44,30 ±18,48A	37,06 ± 17,88A	30,60 ±7,83A	47,08 ±28,86A	33,45 ±7,23A
Célula + <i>E. coli</i>	70,85 ±39,40A	71,52 ±31,11A	52,55 ±15,42A	74,25 ±47,16A	64,23 ±31,20A

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Tabela 14- Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela *S. aureus* marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca – G3 -São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>S. aureus</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	44,30 ±18,48a*	39,98 ±9,03a
T1(n=8)	37,06 ±17,88a	43,17 ±11,76a
T2(n=8)	30,60 ±7,83a	42,95 ±14,10a
T3(n=8)	47,08 ±28,86a	62,38 ±25,50a
T4(n=8)	33,45 ±7,23a	44,34 ±15,09a

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 27 - Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por *S. aureus* marcada com PI, de cabritos que ingeriram colostro de vaca - G3 e a evolução da idade - São Paulo- 2008 a 2009

Gráfico 28 - Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por *S. aureus* marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de vaca (t1 a t4) e a evolução da idade- São Paulo- 2008 a 2009

Tabela 15- Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela *E. coli* marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca – G3- São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>E. coli</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	70,85 ±39,40a*	34,84 ±27,84a
T1(n=8)	71,52 ±31,11a	50,04 ±10,05a
T2(n=8)	52,55 ±15,42a	36,79 ±13,92a
T3(n=8)	74,25 ±47,16a	51,70 ±26,79a
T4(n=8)	64,23 ±31,20a	52,00 ±22,91a

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 29 - Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por *E. coli* marcada com PI de cabritos que ingeriram colostro de vaca “in natura” – G3 e a evolução da idade- São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 30 - Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por *E. coli* marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de colostro de vaca “in natura” – G3 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo – 2008 a 2009

5.1.4 Atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” – Grupo 4 (G4)

Neste item são apresentados os resultados referentes à atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos recém nascidos que ingeriram apenas leite (G4).

5.1.4.1 Resultados da avaliação do metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”

Os valores médios e desvios – padrão da intensidade de fluorescência indicativos do metabolismo oxidativo basal e estimulado pelo *S. aureus* de PMNs do sangue de cabritos, que não ingeriram colostro ao nascer (G4) não diferiram com a idade. Ao serem estimulados com a *E. coli* observou-se um significativo aumento na resposta após t3, ou seja, após 7 dias (Tabela 16 e Gráficos 31 a 33).

A comparação do metabolismo oxidativo basal com o induzido por *S. aureus*, neste grupo de animais, mostra que a ingestão do colostro não é necessária para estimular o metabolismo oxidativo pelo *S. aureus* (Gráfico 34). No caso da *E. coli*, a diferença de intensidade de fluorescência na comparação do metabolismo oxidativo basal com o induzido, no tempo t0, foi significativa apenas a 10%, verificando-se aumento significativo nos demais tempos (t1 a t4), como pode-se visualizar no gráfico 35.

Tabela 16 - Valores das médias e desvios - padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos, “in vitro”, obtidos para o metabolismo oxidativo espontâneo (basal) (DCFH-DA- solução de diacetato 2’7’diclorofluoresceína) e estimulado pelo *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923) (DCFH + *S. aureus*), e pela *Escherichia coli* (cepa O98:H28) (DCFH + *E. coli*), marcadas com Iodeto de propídeo (PI) em animais que ingeriram leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do leite)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
DCFH-DA	272,77 ±80,16A*	319,75 ±66,01A	287,27 ±80,88A	357,99 ±262,85A	297,87 ±170,47A
DCFH+ <i>S. aureus</i>	616,68 ±247,63A	887,43 ±248,71A	720,54 ±305,66A	931,25 ±358,13A	667,31 ±364,65A
DCFH+ <i>E. coli</i>	349,76 ±86,97A	403,73 ±62,93AC	381,69 ±90,18A	614,48 ±171,01BC	671,30 ±408,29C

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 31 – Histograma mostrando a produção média espontânea de H₂O₂- (DCFH), medida pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite - G4, conforme a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 32 - Histograma mostrando os valores médios do metabolismo oxidativo medido pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite - G4, incubados com DCFH e *S. aureus* marcados com PI e conforme a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 33 – Histograma mostrando os valores médios e desvios – padrão da intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4, incubados com DCFH e *E. coli* marcada com PI, e a evolução da idade – São Paulo – 2008 a 2009

Gráfico 34 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado por *S. aureus* marcado com PI (DCFH + *S. aureus*), medidos pela intensidade de fluorescência de PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4 segundo a idade – São Paulo - 2008 a 2009 (* $p < 0,05$ em relação ao metabolismo oxidativo basal)

Gráfico 35 – Histograma mostrando a comparação entre as médias do metabolismo oxidativo basal (DCFH) e estimulado com *E. coli* marcada com PI (DCFH + *E. coli*), medidos pela intensidade de fluorescência PMNs do sangue de cabritos que ingeriram leite – G4, segundo a idade – São Paulo- 2008 a 2009 (* $p < 0,05$ em relação ao metabolismo oxidativo basal)

5.1.4.2 Resultados da avaliação da atividade de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”

Os resultados referentes à fagocitose dos PMNs do sangue de cabritos neonatos que não ingeriram colostro ao nascer medida pela intensidade de fluorescência, induzida pelas bactérias *S. aureus* e *E. coli*, não apresentaram diferenças significativas, ou seja, nos animais que não mamaram colostro a fagocitose tanto por *E. coli* como por *S. aureus* foram semelhantes em todas as faixas etárias (Tabela 17 e Gráfico 36 a 39). O percentual de fagocitose estimulada por *S. aureus* não diferiu ao longo do tempo, mantendo-se com valores relativamente constantes e elevados (Tabela 18 e Gráfico 37). A fagocitose medida pelos valores da intensidade de fluorescência e o percentual de fagocitose mostraram ascensão conforme a evolução da idade quando utilizado o estímulo por *E. coli*, (Tabelas 17 e 19 e Gráficos 38 e 39), no entanto sem significância estatística.

Tabela 17 - Valores médios e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, não estimulados (célula) e estimulados pelo *S. aureus* e pela *E. coli* marcados com PI, segundo a idade de cabritos neonatos, que ingeriram leite – G4 – São Paulo- 2008 a 2009

Condição	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
Célula	19,20 ±3,97A*	21,49 ±3,38A	23,65 ±10,91A	20,01 ±6,24A	17,59 ±4,16A
Célula + <i>S. aureus</i>	54,55 ±22,82A	74,83 ±18,75A	59,56 ±17,63A	81,09 ±36,49A	63,89 ±23,69A
Célula + <i>E. coli</i>	45,77 ±17,44A	53,34 ±17,98A	59,14 ±34,32A	78,73 ±28,89A	98,78 ±47,78A

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Tabela 18 - Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela *S. aureus* marcado pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4 - São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>S. aureus</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	54,55 ±22,82a*	79,69 ±10,62a
T1(n=8)	74,83 ±18,75a	82,81 ±16,46a
T2(n=8)	59,56 ±17,63a	73,52 ±19,74a
T3(n=8)	81,09 ±36,49a	78,60 ±15,50a
T4(n=8)	63,89 ±23,69a	71,27 ±10,15a

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas p<0,05)

Gráfico 36 - Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs, estimulados por *S. aureus* marcado com PI, de cabritos que ingeriram leite – G4 e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009

Gráfico 37 - Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por *S. aureus* marcado com PI, antes (t0) e após a ingestão de leite - G4 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009

Tabela 19 - Valores das médias e desvios-padrão da fagocitose medida pela intensidade média de fluorescência de PMNs, “in vitro”, estimulados pela *E. coli* marcada pelo PI e o percentual de fagocitose, segundo a idade de cabritos neonatos que ingeriram leite – G4- São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Célula + <i>E. coli</i>	% de fagocitose
T0(n=8)	45,77 ±17,44a*	43,47 ±21,02a
T1(n=8)	53,34 ±17,98a	47,41 ±18,89a
T2(n=8)	59,14 ±34,32a	46,45 ±15,07a
T3(n=8)	78,73 ±28,89a	64,14 ±24,46a
T4(n=8)	98,78 ±47,78a	70,31 ±17,45a

*letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas p<0,05)

Gráfico 38 - Atividade fagocítica, medida pela intensidade de fluorescência de PMNs estimulados por *E. coli* marcada com PI, de cabritos que ingeriram leite – G4 e a evolução da idade- São Paulo- 2008 a 2009

Gráfico 39 - Percentuais de fagocitose de PMNs do sangue de cabritos neonatos estimulados por *E. coli* marcada com PI, antes (t0) e após a ingestão de leite – G4 (t1 a t4) e a evolução da idade - São Paulo - 2008 a 2009

5.2 EXAMES COMPLEMENTARES

A seguir são apresentados os resultados referentes a avaliação das taxas de cortisol, dos componentes do leucograma e do proteinograma, da atividade de Gamaglutamiltransferase e da determinação das imunoglobulinas G e M do sangue de cabritos neonatos “in vitro”, obtidos nos grupos experimentais tratados com diferentes manejos de colostro.

5.2.1 Cortisol

A tabela 20 e gráfico 40 mostram os valores médios e desvios-padrão das taxas de cortisol obtidas no sangue de cabritos neonatos, nos primeiros quinze dias de vida (t0 a t4), segundo os grupos de animais: grupo 1 (que ingeriram colostro de cabra “in natura”), grupo 2 (que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos), grupo 3 (que ingeriram colostro de vaca “in natura”) e grupo 4 (que ingeriram apenas leite).

Os teores de cortisol nos animais dos grupos 1, 3 e 4 apresentaram-se elevados até o tempo t1, enquanto o grupo 2 apresentou taxa de cortisol baixa e que reduziu significativamente em t1 comportamento que se manteve ao longo do tempo até t4. Nos demais grupos (G1, G3 e G4) a redução do teor de cortisol se fez só a partir de t2.

A comparação entre os grupos permitiu verificar-se que o teor de cortisol dos animais do grupo 1, no tempo t0, foi significativamente maior que aquele dos animais do grupo 2. O teor de cortisol dos animais do grupo 2 apresentou o menor valor quando comparado aos dos demais grupos no tempo t1. Os animais do grupo 3 apresentaram uma taxa maior de cortisol no tempo t3 quando comparada com as dos demais grupos e os valores foram similares em todos os grupos no t4 (Tabela 20 e Gráfico 40).

Tabela 20- Valores médios e desvios – padrão dos teores de cortisol (ng/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009

Momentos	Cortisol (ng/dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	13,46±7,26aA*	6,94 ±1,55aB	10,13±4,44aAB	9,97 ±3,45aAB
T1 (até 48 hs p.n.)	7,29 ±2,23aA	3,83±3,44bB	10,78 ±5,26aA	10,98±8,79aA
T2 (72h-96hs p.n.)	3,23±2,17bA	4,43 ±1,19bAB	5,60 ±2,10bB	4,05 ±1,10bAB
T3 (168-192hs p.n.)	2,95±3,06bA	1,83±0,70cA	4,15 ±0,91bB	1,79 ±0,87cA
T4 (336-360hs p.n.)	0,85 ±0,69cA	1,01 ±0,80cA	1,96 ±1,34cA	1,22 ±0,95cA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$);
letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 40 – Evolução dos valores médios dos teores de cortisol (ng/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009

5.2.2 Resultados dos componentes do Leucograma

A tabela 21 mostra os valores médios e desvios - padrão de todos os componentes do leucograma do sangue de cabritos dos grupos experimentais estudados, permitindo a comparação entre grupos, para cada componente e nos tempos avaliados nos primeiros quinze dias de vida (t0 a t4).

Em seguida, se faz análise individualizada em particular dos resultados do número total de leucócitos do sangue, para cada um dos grupos pesquisados, segundo a idade dos animais e as diferenças que foram observadas entre os grupos (Tabela 22 e Gráfico 41) e aqueles referentes aos valores de neutrófilos polimorfonucleares do sangue de cabritos neonatos, segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingeridos (Tabela 23 e Gráfico 42).

5.2.2.1 Resultados da avaliação do número total de leucócitos do sangue de cabritos neonatos

Os resultados referentes ao número total de leucócitos do sangue de cabritos neonatos mostram diferenças em relação à evolução da idade (Tabela 22). No grupo 2 ocorreu um aumento significativo no número total de leucócitos do tempo t0 quando comparado ao tempo t2. Os animais do grupo 3 tiveram um aumento caracterizado como significativo somente em t4. Os animais que não ingeriram colostro mostraram um discreto, porém significativo aumento no número total de leucócitos nos tempos t3 e t4 (Gráfico 41).

Comparando as médias dos resultados entre os grupos em cada uma das faixas etárias observou-se que no tempo t0 os animais do grupo 3 apresentaram o maior valor do total de leucócitos no sangue. No tempo t1, os animais do grupo 4 (que ingeriram apenas leite) apresentaram os menores valores de leucócitos no sangue. Nos tempos t3 e t4 os animais do grupo 3 apresentaram os maiores valores de leucócitos na comparação com os demais grupos (Tabela 22 e Gráfico 41).

Tabela 21 – Valores médios absolutos e desvios-padrão dos componentes do leucograma de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1; colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e leite – G4) - São Paulo, 2008 a 2009

Grupos		T0	T1	T2	T3	T4
Componentes		(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
Leucócitos x 10 ³ /μl	1 (n=8)	4,73±2,88a*	6,03±4,36ab	5,80±2,23a	7,26±2,11ab	6,23±1,43a
	2 (n=8)	3,01 ±1,30a	3,58 ±1,14ab	5,74 ±2,23a	4,92 ±1,91a	4,67 ±1,14a
	3 (n=8)	7,19 ±±6,28a	6,07 ±2,15b	8,78 ±5,15a	12,04 ±5,69b	15,27 ±6,68b
	4 (n=8)	3,90 ±1,29a	2,71 ±1,32a	4,95 ± 3,04a	5,65 ±1,63a	5,91 ±2,31a
Basófilos x10 ³ /μl	1 (n=8)	0,00±0,00a	0,03 ±0,04a	0,03±0,04a	0,10±0,08ab	0,10±0,13a
	2 (n=8)	0,00±0,00a	0,04±0,04a	0,10±0,10a	0,10±0,11ab	0,00±0,01a
	3 (n=8)	0,00±0,00a	0,04±0,05a	0,10±0,10a	0,16±0,13b	0,08±0,01a
	4 (n=8)	0,00±0,00a	0,00±0,00a	0,06±0,05a	0,02±0,03a	0,08±0,09a
Eosinófilos x10 ³ /μl	1 (n=8)	0,00±0,00a	0,00±0,01a	0,00 ±0,00a	0,06±0,08a	0,07±0,15a
	2 (n=8)	0,00 ±0,00a	0,00±0,01a	0,01±0,03a	0,02±0,03a	0,02±0,02a
	3 (n=8)	0,00±0,01a	0,02±0,03a	0,04±0,07a	0,01±0,05a	0,07±0,08a
	4 (n=8)	0,00 ±0,00a	0,00±0,01a	0,00 ±0,00a	0,00±0,01a	0,08±0,12a
Neutrófilos x 10 ³ /μl	1 (n=8)	1,80±0,90a	2,30±0,90a	2,30±1,10a	3,2±1,3ab	2,9±0,6ab
	2 (n=8)	0,95±0,47a	1,60±0,30a	2,00±0,43a	1,7±0,81a	2,0±0,24a
	3 (n=8)	2,80±1,80a	2,30±1,00a	2,00±1,10a	5,0±3,4b	6,4±3,9b
	4 (n=8)	1,80±0,60a	1,10±0,70a	1,10±0,77a	2,0±1,0ab	2,2±0,92a
Linfócitos x 10 ³ /μl	1 (n=8)	1,90±1,00a	2,00±1,00ab	2,50±1,00a	2,9±0,7ab	2,7±0,9a
	2 (n=8)	1,50±0,40a	2,10±1,10ab	2,90±1,00a	2,4±0,6a	2,1±0,7a
	3 (n=8)	2,10±0,50a	3,60±0,80b	3,80±0,80a	4,9±1,4b	5,3±1,6b
	4 (n=8)	1,90±1,00a	1,50±0,60a	2,50±0,70a	2,6±1,1ab	2,5±0,6a
Monócitos x 10 ³ /μl	1 (n=8)	0,09±0,02a	0,13±0,05a	0,18±0,09a	0,14±0,07a	0,08±0,04a
	2 (n=8)	0,03±0,01a	0,06±0,02a	0,12±0,06a	0,07±0,04a	0,11±0,07a
	3 (n=8)	0,08±0,03a	0,15±0,13a	0,43±0,34a	0,47±0,30a	0,45±0,24a
	4 (n=8)	0,06±0,02a	0,05±0,02a	0,14±0,06a	0,10±0,07a	0,18±0,11a

* letras minúsculas na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05), para cada componente, nos grupos em cada tempo

Tabela 22 - Valores médios e desvios – padrão do número de leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{l}$) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4)- São Paulo - 2008 a 2009

Momentos	Leucócitos $\times 10^3/\mu\text{l}$ de sangue			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	4,73 $\pm$ 2,88aAB*	3,01 $\pm$ 1,30aA	7,19 $\pm$ 6,28aB	3,90 $\pm$ 1,29abAB
T1 (até 48 hs p.n.)	6,03 $\pm$ 4,36aAB	3,58 $\pm$ 1,14abAC	6,07 $\pm$ 2,15aB	2,71 $\pm$ 1,32aC
T2 (72h-96hs p.n.)	5,80 $\pm$ 2,23aA	5,74 $\pm$ 2,23bA	8,78 $\pm$ 5,15abA	4,95 $\pm$ 3,04abA
T3 (168-192hs p.n.)	7,26 $\pm$ 2,11aA	4,92 $\pm$ 1,91abB	12,04 $\pm$ 5,69abC	5,65 $\pm$ 1,63bAB
T4 (336-360hs p.n.)	6,23 $\pm$ 1,43aA	4,67 $\pm$ 1,14abB	15,27 $\pm$ 6,68bC	5,91 $\pm$ 2,31bAB

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$), letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 41- Histograma demonstrativo dos valores médios e desvios – padrão do número de leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{l}$) do sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009

5.2.2.2 Resultados da avaliação do número de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) do sangue de cabritos neonatos

A tabela 23 e a gráfico 42 mostram os valores médios e desvios padrão do número de neutrófilos polimorfonucleares do sangue de cabritos recém nascidos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingeridos (G1, G2, G3 e G4). Pode-se notar que não houve diferença do número absoluto destas células, nas diferentes faixas etárias em nenhum dos grupos (Tabela 23). Na análise de cada uma das faixas etárias notou-se aumentos significativos dos números destas células no grupo 3 em relação ao grupo 2 nos momentos t3 e t4, e também no tempo t4 em relação aos animais do grupo 4 (Tabela 23 e Gráfico 42) .

Tabela 23 – Valores médios e desvios – padrão do número de neutrófilos polimorfonucleares $\times 10^3/\mu\text{l}$ do sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingeridos (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” – G3 e leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009

Momentos	Polimorfonucleares $\times 10^3/\mu\text{l}$ de sangue			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	1,8 $\pm$ 0,9aA*	0,95 $\pm$ 0,47aA	2,8 $\pm$ 1,8aA	1,8 $\pm$ 0,6aA
T1 (até 48 hs p.n.)	2,3 $\pm$ 0,9aA	1,6 $\pm$ 0,3aA	2,3 $\pm$ 1,0aA	1,1 $\pm$ 0,7aA
T2 (72h-96hs p.n.)	2,3 $\pm$ 1,1aA	2,0 $\pm$ 0,43aA	2,0 $\pm$ 1,1aA	1,1 $\pm$ 0,77aA
T3 (168-192hs p.n.)	3,2 $\pm$ 1,3aAB	1,7 $\pm$ 0,81aA	5,0 $\pm$ 3,4aB	2,0 $\pm$ 1,0aAB
T4 (336-360hs p.n.)	2,9 $\pm$ 0,6aAB	2,0 $\pm$ 0,24aA	6,4 $\pm$ 3,9aB	2,2 $\pm$ 0,92aA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$);
letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 42 - Histograma demonstrativo dos valores médios e desvios – padrão do número de neutrófilos polimorfonucleares $\times 10^3/\mu\text{l}$ do sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ou leite ingeridos (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e leite - G4)- São Paulo - 2008 a 2009

5.2.3 Resultados dos valores séricos de componentes do proteinograma e da atividade sérica da Gamaglutamiltransferase

Inicialmente são apresentados os resultados dos valores séricos médios e desvios padrão de componentes do proteinograma e da atividade da gamaglutamiltransferase, de cada um dos grupos experimentais (Tabelas 24 a 27) e na sequência a comparação entre valores obtidos em cada um dos grupos para as diferentes determinações estudadas (Tabelas 28 a 33 e Gráficos 43 a 48).

Os valores séricos de proteína total (P.T.), dos animais pertencentes aos grupos que ingeriram colostro (grupos 1, 2 e 3), foram menores antes da ingestão do colostro, do que nos outros tempos do experimento. Apresentaram aumento dos teores de P.T. no tempo t1 e constancia dos valores até o tempo t4 (Tabelas 24 a 26). Os animais que receberam apenas leite (G4) apresentaram valores estáveis com um discreto aumento no valor sérico de proteína total no tempo t4 (Tabela 27). Realizando-se a comparação entre os grupos, em cada um dos tempos, notou-se que o valor médio de proteína sérica total foi discretamente menor para os animais do grupo 4, após a ingestão do leite até o tempo t3 (Tabela 28 e Gráfico 43).

Os resultados do fracionamento eletroforético para albumina sérica e frações globulinicas encontram-se nas tabelas 24 a 27 e de 29 a 32. Os valores médios de albumina

não diferiram em função do tempo em nenhum dos grupos experimentais (Tabela 29). A comparação dos valores médios de albumina sérica entre os animais dos quatro grupos não demonstraram diferenças significativas em nenhum dos tempos do estudo (Tabela 29 e Gráfico 44).

Considerando os resultados da fração alfa globulina sérica (Tabelas 24 a 27), em relação a idade, o grupo 4 apresentou menores valores com diferença significativa no tempo t1 em relação aos tempos t3 e t4 (Tabela 30 e Gráfico 45). Comparando os valores entre os grupos em cada uma das faixas etárias notou-se diferença significativa entre os grupos 2 e 3 em relação ao grupo 4 no tempo t1, não havendo diferenças significativas entre grupos nos outros tempos.

Analisando os resultados da fração beta globulina sérica (Tabelas 24 a 27), observou-se em relação a idade que somente o grupo 4 apresentou diferenças significativas no tempo t4 em relação aos tempos t0 a t2 (Tabela 31). Comparando os grupos em cada faixa etária, notou-se que os animais do grupo 4 apresentaram um aumento significativo da taxa desta fração proteica no tempo t4 quando comparado com os teores dos animais do grupo 3 (Tabela 31 e Gráfico 46).

Na avaliação dos resultados da fração das gamaglobulinas séricas (Tabelas 24 a 27), verificou-se que em relação a idade os grupos que ingeriram colostro (G1, G2, e G3) apresentaram aumento com valores máximos desta fração proteica no tempo t1 e após manutenção e queda dos valores de forma significativa em t4. Os valores de gamaglobulina para os animais do grupo que não ingeriu colostro (grupo 4) permaneceram baixos e estáveis até t3 e em t4 apresentaram aumento significativo. Comparando os resultados entre os grupos notou-se que os valores médios desta fração proteica não diferiram antes da ingestão do colostro ou leite (t0). Entretanto após a ingestão do colostro o grupo que apresentou maiores valores desta proteína foi aquele que ingeriu colostro de cabra “in natura” (G1), os outros dois grupos que ingeriram colostro (G2 e G3) também apresentaram valores que elevaram, porém em menor magnitude no grupo 3 (Tabela 32 e Gráfico 47).

Os valores médios da atividade sérica de GGT dos animais dos quatro grupos (Tabelas 24 a 27) foram mínimos antes da ingestão do colostro e máximos após a ingestão do colostro ou leite (Tabela 33). Observando os valores dos animais do grupo 3 verificou-se aumento expressivo e significativo em t1, sendo este o maior entre os grupos. Os animais dos grupos 1 e 2 também apresentaram aumentos significativos em t1, porém de forma não tão pronunciado como nos animais que ingeriram colostro de vaca “in natura”. Para os animais do grupo 4, os valores de GGT foram os menores e se mantiveram baixos durante todo o período

experimental (Tabela 33). A comparação entre os grupos em cada uma das faixas etárias, mostrou diferença entre os animais do grupo 4 em relação aos demais grupos no período entre os tempos t1 e t3. Destacou-se ainda quedas significativas dos valores, a partir de t2 nos grupos que ingeriram colostro (Tabela 33 e Gráfico 48).

Tabela 24- Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão colostro de cabra “in natura” - G1, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Determinações	Momentos				
	T0 (antes da ingestão do colostro)	T1 (até 48 hs p.n.)	T2 (72h-96hs p.n.)	T3 (168-192hs p.n.)	T4 (336-360hs p.n.)
Proteína sérica total (g/dl)	4,52±0,60	6,11 ±0,73	5,78 ±0,48	5,99 ±0,41	5,66 ±0,57
Albumina sérica (g/dl)	3,03 ±0,45	2,57 ±0,67	2,47 ± 0,52	2,69 ± 0,65	2,75 ±0,63
Alfaglobulina(g/dl)	0,40 ± 0,17	0,44 ±0,17	0,50 ±0,16	0,55 ± 0,10	0,51 ±0,18
Betaglobulina(g/dl)	0,68 ±0,18	0,71 ±0,16	0,68 ±0,09	0,70 ±0,10	0,78 ± 0,11
Gamaglobulina(g/dl)	0,18 ±0,08	2,19 ±0,72	1,91 ±0,64	1,81 ±0,48	1,40 ±0,59
Gamaglutamiltransferase (UI/L)	22,98 ±9,16	101,18 ±41,24	66,61 ±29,08	45,73 ±14,63	25,46 ±8,92

Tabela 25 - Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos - G2, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Determinações	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do colostro)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
Proteína sérica total (g/dl)	4,54 ±0,38	6,33 ±2,83	5,95 ±0,83	5,64 ±0,52	5,55 ±0,49
Albumina sérica (g/dl)	3,06 ±0,29	2,78 ±1,23	2,69 ±0,49	2,90 ±0,59	2,77 ±0,36
Alfaglobulina(g/dl)	0,47 ±0,15	0,59 ±0,27	0,49 ±0,17	0,46 ±0,19	0,62 ±0,16
Betaglobulina(g/dl)	0,59 ±0,19	0,56 ±0,22	0,68 ±0,19	0,62 ±0,15	0,72 ±0,13
Gamaglobulina(g/dl)	0,17 ±0,07	2,04 ±1,20	1,80 ±0,53	1,39 ±0,43	1,20 ±0,43
Gamaglutamiltransferase (UI/L)	16,81 ±1,56	132,81 ±47,57	65,31 ±18,36	44,10 ±8,97	34,98 ±5,15

Tabela 26- Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão colostro de vaca “in natura”- G3, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Determinações	Momentos				
	T0 (antes da ingestão do colostro)	T1 (até 48 hs p.n.)	T2 (72h-96hs p.n.)	T3 (168-192hs p.n.)	T4 (336-360hs p.n.)
Proteína sérica total (g/dl)	4,27 ±0,30	5,31 ±0,63	4,90 ±0,35	5,04 ±0,21	4,89 ±0,36
Albumina sérica (g/dl)	3,00±0,18	2,79±0,29	2,58±0,43	2,75±0,28	2,81±0,33
Alfaglobulina(g/dl)	0,43 ±0,07	0,59 ±0,12	0,55 ±0,10	0,51 ±0,14	0,50 ±0,15
Betaglobulina(g/dl)	0,62 ±0,13	0,79 ±0,12	0,72 ±0,15	0,72 ±0,12	0,67 ±0,13
Gamaglobulina(g/dl)	0,10 ±0,03	0,99 ±0,35	0,88 ±0,34	0,88 ±0,33	0,71 ±0,28
Gamaglutamiltransferase (UI/L)	23,06 ±7,64	217,15 ±94,61	94,08 ±43,62	57,71 ±20,59	34,65 ±10,39

Tabela 27 - Valores séricos médios e desvios padrão de proteína total (g/dl), albumina (g/dl), e frações alfa, beta e gamaglobulinas (g/dl) e da atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase, de cabritos neonatos que receberão apenas leite - G4, segundo a idade – São Paulo – 2008 a 2009

Determinações	Momentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
	(antes da ingestão do leite)	(até 48 hs p.n.)	(72h-96hs p.n.)	(168-192hs p.n.)	(336-360hs p.n.)
Proteína sérica total (g/dl)	4,49 ±0,57	4,21 ±0,54	4,28 ±0,42	4,46 ±0,57	5,14 ±0,52
Albumina sérica (g/dl)	3,13 ±0,57	2,93 ±0,39	2,79 ±0,32	2,62 ±0,38	2,94 ±0,40
Alfaglobulina(g/dl)	0,32 ±0,21	0,26 ±0,20	0,38 ±0,16	0,57 ±0,19	0,53 ±0,23
Betaglobulina(g/dl)	0,63 ±0,14	0,64 ±0,15	0,68 ±0,20	0,74 ±0,17	0,92 ±0,10
Gamaglobulina(g/dl)	0,17 ±0,08	0,16 ±0,12	0,20 ±0,16	0,34 ±0,11	0,46 ±0,22
Gamaglutamiltransferase (UI/L)	18,65 ±6,15	44,33 ±28,27	33,03 ±18,34	27,73 ±10,49	25,35 ±8,68

Tabela 28- Valores séricos médios e desvios – padrão de proteína total (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo – 2008 a 2009

Momentos	Proteína sérica total (g/dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	4,52±0,60aA*	4,54 ±0,38aA	4,27 ±0,30aA	4,49 ±0,57abA
T1 (até 48 hs p.n.)	6,11 ±0,73bA	6,33 ±2,83aAB	5,31 ±0,63bB	4,21 ±0,54aC
T2 (72h-96hs p.n.)	5,78 ±0,48bA	5,95 ±0,83aA	4,90 ±0,35bB	4,28 ±0,42aB
T3 (168-192hs p.n.)	5,99 ±0,41bA	5,64 ±0,52aA	5,04 ±0,21bB	4,46 ±0,57aB
T4 (336-360hs p.n.)	5,66 ±0,57bA	5,55 ±0,49aA	4,89 ±0,36bB	5,14 ±0,52bAB

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05), letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 43 - Variação dos valores séricos médios de proteína sérica total (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo- 2008 a 2009

Tabela 29 - Valores séricos médios e desvios – padrão de albumina (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo-2008 a 2009

Momentos	Albumina (g/dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	3,26 ±0,75Aa*	3,21 ±0,36aA	2,95 ±0,26aA	3,13 ±0,45aA
T1 (até 48 hs p.n.)	2,67 ±0,72aA	2,89± 1,27aA	2,77 ±0,33aA	3,06 ±0,55aA
T2 (72h-96hs p.n.)	2,59 ±0,56aA	2,82 ±0,48aA	2,71 ±0,21aA	2,90 ±0,41aA
T3 (168-192hs p.n.)	2,78 ±0,68aA	2,92 ±0,55aA	2,83 ±0,26aA	2,72 ±0,36aA
T4 (336-360hs p.n.)	2,91 ±0,77aA	2,80 ±0,45aA	2,93 ±0,24aA	3,09 ±0,42aA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05), letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 44 - Variação dos valores séricos médios de albumina (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009

Tabela 30 – Valores séricos médios e desvios – padrão de alfa globulina (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009

Momentos	Fração alfa globulina (g/dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	0,42 ±0,18aA*	0,50 ±0,15aA	0,46 ±0,08aA	0,37 ±0,18abA
T1 (até 48 hs p.n.)	0,45 ±0,19aAB	0,61 ±0,29aA	0,63 ±0,18aA	0,31 ±0,22bB
T2 (72h-96hs p.n.)	0,50 ±0,15aA	0,54 ±0,16aA	0,58 ±0,11aA	0,43 ±0,17abA
T3 (168-192hs p.n.)	0,56 ±0,07aA	0,53 ±0,18aA	0,58 ±0,15aA	0,60 ±0,19aA
T4 (336-360hs p.n.)	0,52 ±0,16aA	0,69 ±0,19aA	0,53 ±0,15aA	0,60 ±0,24aA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$), letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 45 - Variação dos valores séricos médios de alfa globulina (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo- 2008 a 2009

Tabela 31 - Valores séricos médios e desvios – padrão de betaglobulina (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009

Momentos	Fração betaglobulina (g/dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	0,69 ±0,18aA*	0,61 ±0,17aA	0,66 ±0,17aA	0,70 ±0,16aA
T1 (até 48 hs p.n.)	0,73 ±0,15aA	0,61 ±0,25aA	0,79 ±0,18aA	0,72 ±0,20aA
T2 (72h-96hs p.n.)	0,69 ±0,07aA	0,72 ±0,21aA	0,73 ±0,13aA	0,73 ±0,25aA
T3 (168-192hs p.n.)	0,77 ±0,10aA	0,70 ±0,16aA	0,75 ±0,15aA	0,74 ±0,12abA
T4 (336-360hs p.n.)	0,79 ±0,15aAB	0,79 ±0,20aAB	0,71 ±0,18aA	0,98 ±0,12bB

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$),
letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 46 - Variação dos valores séricos médios de betaglobulinas (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009

Tabela 32 - Valores séricos médios e desvios – padrão de gamaglobulinas (g/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo - 2008 a 2009

Momentos	Fração gamaglobulina (g/dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	0,14 ±0,02aA*	0,23 ±0,08aA	0,19 ±0,14aA	0,25 ±0,12aA
T1 (até 48 hs p.n.)	2,26 ±0,73bA	2,22 ±1,30bAB	1,12 ±0,32bB	0,18 ±0,07aC
T2 (72h-96hs p.n.)	1,99 ±0,65bcA	1,87±0,53bcAB	0,89 ±0,27bcB	0,23 ±0,16abC
T3 (168-192hs p.n.)	1,88 ±0,53bcA	1,49±0,41cdAB	0,87 ±0,31bcB	0,40 ±0,20abC
T4 (336-360hs p.n.)	1,44 ±0,65cA	1,27 ±0,35dAB	0,71 ±0,23cBC	0,53 ±0,20bC

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05), letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 47 - Variação dos valores séricos médios de gamaglobulinas (g/dl) de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009

Tabela 33 - Valores séricos médios e desvios – padrão da atividade sérica de gamaglutamiltransferase (UI/L) -GGT no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e Leite –G4) - São Paulo- 2008 a 2009

Momentos	Gamaglutamiltransferase (UI/L)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	22,98 ±9,16aA*	16,81 ±1,56aA	23,06 ±7,64aA	18,65 ±6,15aA
T1 (até 48 hs p.n.)	101,18 ±41,24bA	132,81±47,57bA	217,15 ±94,61bB	44,33 ±28,27bC
T2 (72h-96hs p.n.)	66,61±29,08bAB	65,31±18,36cAB	94,08 ±43,62cA	33,03 ±18,34bcB
T3 (168-192hs p.n.)	45,73±14,63cAB	44,10 ±8,97dAB	57,71 ±20,59dA	27,73 ±10,49abB
T4 (336-360hs p.n.)	25,46 ±8,92aA	34,98 ±5,15eA	34,65 ±10,39eA	25,35 ±8,68acA

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05),
letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 48 - Atividade sérica da enzima gamaglutamiltransferase (UI/L) - GGT no sangue de cabritos dos quatro grupos experimentais e nos diferentes tempos do estudo – São Paulo - 2008 a 2009

5.2.4 Determinação das imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM)

Nas tabelas 34 e 35 e gráficos 49 e 50 estão apresentados os valores das médias das taxas séricas das imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) respectivamente. Verificou-se que antes da ingestão do colostro (tempo zero) não houve diferença significativa entre os valores das médias das imunoglobulinas G, apresentando-se com baixas taxas nos quatro grupos experimentais.

Os animais dos grupos que ingeriram colostro tanto de cabra “in natura” (G1) ou aquecido a 56° C por 60 minutos (G2), como de vaca “in natura” (G3) apresentaram aumento nos valores de IgG a um máximo após a ingestão do colostro (Tabela 34). Este aumento foi mais pronunciado e precoce nos grupos 1 e 2, sendo de menor magnitude e mais tardio no grupo 3. A seguir os valores mantiveram-se momentaneamente e/ou caíram até t4. Os animais que ingeriram apenas leite (G4) apresentaram valores baixos de IgG por todo o período experimental (Tabela 34 e Gráfico 49), sendo significativamente menores que os dos grupos de animais que mamaram colostro (G1, G2 e G3) entre t1 e t4. Não ocorreram diferenças entre os valores dos grupos G1, G2 e G3 nos tempos avaliados.

Os valores de IgM foram mínimos nos quatro grupos experimentais estudados antes da ingestão do colostro ou leite (Tabela 35). Os animais do grupo 1 apresentaram aumento nos valores de IgM após a ingestão do colostro, sendo máximo no tempo t1 e a seguir foram caindo até o tempo t4, o mesmo sendo observado, só que em menores proporções, nos animais do grupo 2, entretanto neste grupo os valores se mantiveram em uma constante. Os animais do grupo 3 apresentaram valores baixos de IgM por todo o período do estudo. Comportamento diverso foi observado naqueles que ingeriram apenas leite (G4) que iniciaram (t0) com valor baixo que se manteve, e em t3 apresentaram um aumento significativo e mantido em t4. Na comparação entre os grupos, em cada faixa etária, observou-se valores significativamente maiores nos tempos t1 e t2 dos grupos 1 e 2 em relação aos dos grupos 3 e 4. No tempo t3 notou-se que os valores de G1 e G2 foram maiores em relação aos dos animais do grupo 3, e em contraposição no grupo 4 sofreu aumento, igualando-se em t3 com aqueles de G1 e G2, e em t4 com aquele de G2 (Tabela 35 e Gráfico 50).

Tabela 34 - Valores séricos médios e desvios – padrão da concentração de IgG (mg/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura” - G3 e Leite – G4) - São Paulo- 2008 a 2009

Momentos	Concentração de IgG (mg/ dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	0,18 ±0,05aA*	0,25 ±0,10aA	0,21 ±0,08aA	0,87±0,73aA
T1 (até 48 hs p.n.)	3.120,19±2.279,21bA	2.806,28±840,00bA	1.509,21±1.103,85bA	157,57±201,04aB
T2 (72h-96hs p.n.)	2.428,58±2.057,49bA	2.314,97±907,29bA	1.635,82±1.679,93bA	93,64 ±118,27aB
T3 (168-192hs p.n.)	1.545,89 ±705,23bA	2.041,44±1.084,24bA	1.433,59±1.933,01bA	86,76 ±129,93aB
T4 (336-360hs p.n.)	1.087,65 ±505,60bA	1.689,02±1.033,87bA	853,37 ±271,95bA	131,35 ±151,77aB

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$), letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas ($p<0,05$)

Gráfico 49 – Valores séricos médios de IgG (mg/dl) no sangue de cabritos dos diferentes grupos experimentais, observados antes da ingestão do colostro ou leite (t0) e após a mamada (t1 a t4) - São Paulo- 2008 a 2009

Tabela 35- Valores séricos médios e desvios –padrão da concentração de IgM (mg/dl) no sangue de cabritos neonatos segundo a idade e o tipo de colostro ingerido (colostro de cabra “in natura” - G1, colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos – G2, colostro de vaca “in natura”- G3 e Leite – G4) - São Paulo- 2008 a 2009

Momentos	Concentração de IgM (mg/dl)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
T0 (antes da ingestão do colostro)	1,84 ±0,51aA*	2,48 ±1,37aA	13,08 ±26,68aA	17,05 ±21,94aA
T1 (até 48 hs p.n.)	469,58±169,15bA	341,82±235,07bA	94,54 ±57,36bB	9,53 ±3,26aC
T2 (72h-96hs p.n.)	421,60±323,96bcA	290,33±170,62bcA	63,86 ±31,56bcB	33,16 ±34,29bC
T3 (168-192hs p.n.)	257,69 ±163,39cA	179,54±176,65bcA	35,52 ±37,23cB	235,77 ±190,12cA
T4 (336-360hs p.n.)	86,69 ±75,23dA	210,08±315,94cAC	6,87 ±5,24aB	243,18±220,10cC

*letras maiúsculas diferentes na mesma linha, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05);
letras minúsculas diferentes na mesma coluna, indicam resultados com diferenças significativas (p<0,05)

Gráfico 50 – Valores séricos médios de IgM (mg/dl) no sangue de cabritos dos diferentes grupos experimentais, observados antes da ingestão do colostro ou leite (t0) e após a mamada (t1 a t4) - São Paulo- 2008 a 2009

6 DISCUSSÃO

A importância do fornecimento do colostro ao neonato tem sido foco de estudos de muitos pesquisadores, pois apesar de parecer uma prática simples, muitos recém nascidos morrem em decorrência de falhas na transferência de imunidade passiva colostrar. Estudos em relação ao comportamento imunológico de bezerros neonatos estão mais avançados em razão do maior significado econômico e preocupação com as criações de bovinos. Os conhecimentos adquiridos através dos estudos realizados na espécie bovina acabam muitas vezes sendo extrapolados para os outros ruminantes, apesar de apresentarem particularidades bem definidas.

A avaliação da imunidade inata por meio de estudos da função dos leucócitos polimorfonucleares (PMNs) no sangue de caprinos neonatos e do papel de opsoninas como anticorpos e fatores do complemento são escassos, e ainda não se encontra completamente estabelecido.

Assim sendo, neste trabalho avaliou-se a função de PMNs do sangue de cabritos neonatos, analisando a produção espontânea e provocada de peróxido de hidrogênio e a fagocitose em animais com até 15 dias de vida que receberam diferentes manejos de colostro ao nascimento.

O exame físico dos animais, utilizado para seleção e acompanhamento da higidez dos neonatos durante o período experimental considerou a análise do estado geral (grau de depressão clínica) podendo-se verificar que o variado manejo de colostro não influenciou praticamente está característica. No entanto, os resultados do escore fecal caracterizaram quadro de diarreia mais freqüente nos cabritos do G3, que mamaram colostro de vaca, e mais intenso e precoce nos neonatos do G4, que não mamaram colostro. O estado de hidratação sofreu alterações discretas evidenciando leve desidratação, detectada em menor número de neonatos do que aqueles com quadro de diarreia em cada grupo. Tais constatações confirmam as recomendações quanto à necessidade de volume e qualidade adequados do colostro fornecido aos neonatos (BENESI, 1996; BOHLAND, 2008). Quanto ao fato da falha de transferência de imunidade passiva colostrar determinar maior morbidade e gravidade das enfermidades nos neonatos este pode ser confirmado pela intensidade e precocidade do quadro de diarreia no G4, alimentado só com leite, e pelo maior número (cinco) de animais descartados, por morte ou doença grave, nesse mesmo

grupo experimental. Esses resultados corroboram com aqueles destacados por Benesi (1996), Borges (1997) e Bohland (2008) em bezerros neonatos.

Na avaliação da temperatura corporal dos animais dos quatro grupos estudados não se observou diferenças significativas em relação à idade e nem na comparação entre os grupos. Os valores da temperatura corporal em média variaram de $38,9 \pm 0,99$ a $39,7 \pm 0,32$. Apesar dos animais do grupo 4 terem apresentado valores com variações significativas os mesmos encontravam-se dentro dos intervalos fisiológicos descritos como referência na literatura especializada (BIRGEL; BENESI; ARAÚJO, 1990; PUGH, 2004). Os resultados deste trabalho também concordaram com aqueles descritos por Pereira et al. (2001) no qual destacaram temperatura corporal obtidas para animais desmamados e adultos com variação entre 38,5 a 40,3 graus Celsius.

A frequência dos batimentos cardíacos dos animais dos quatro grupos experimentais não apresentou diferenças significativas em relação à evolução da idade. Os valores médios dos batimentos cardíacos encontrados variaram entre $129,00 \pm 37,63$ e $224,50 \pm 30,94$ sendo inferiores àqueles encontrados na literatura como referência para animais de mesma idade ($209,00 \pm 6,00$ a $255,00 \pm 15,00$) (SMITH; SHERMAN, 1994). A comparação entre os grupos mostrou que no tempo t0 que os animais do grupo 2 apresentaram uma frequência dos batimentos cardíacos menor que a do grupo 4, e no tempo t2 menor que as dos grupos 1 e 3. No tempo t3 o grupo 4 evidenciou frequência dos batimentos cardíacos mais elevada quando comparada àquelas dos demais grupos. No entanto essas variações não puderam ser relacionadas diretamente ao manejo do colostro usado para os diferentes grupos.

A frequência dos movimentos respiratórios não apresentou diferenças significativas influenciada pela evolução da idade. Os valores médios encontrados variaram entre $39,5 \pm 7,54$ a $63,0 \pm 22,90$ movimentos por minuto. A comparação entre os grupos não mostrou diferenças. Os valores das frequências respiratórias foram semelhantes aos observados para cabritos com idade entre o nascimento e seis meses de vida ($33,40 \pm 12,70$ mpm) (BIRGEL; BENESI; ARAÚJO, 1990) e superiores àqueles encontrados na literatura para animais adultos (15 a 30 mpm) (SMITH e SHERMAN, 1994; PUGH, 2004) e para animais em fase de desmame (PEREIRA et al., 2001). Esse comportamento com valores da frequência respiratória mais elevados em cabritos é concordante com aquele observado em caprinos por Birgel; Benesi e Araújo, 1990 e em bezerros neonatos por Benesi, 1992; Lisboa et al., 2003; Bohland, 2008.

6.1 ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS NO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS – GRUPO 1

O metabolismo oxidativo basal dos animais que ingeriram colostro de cabra “in natura” (G1), não diferiu com a idade. A estimulação da explosão respiratória com as bactérias *S. aureus* e *E. coli* não revelou alteração na intensidade de fluorescência dos fagócitos PMNs mesmo após a ingestão do colostro, ou seja, a presença das imunoglobulinas do colostro não exerceu influência sobre o metabolismo oxidativo basal e estimulado nos diferentes momentos do estudo.

Estes resultados concordam com os obtidos por Bohland (2008) que também verificou que o colostro não exerce influência sobre o metabolismo basal de PMNs do sangue de bezerros neonatos. Todavia, quando os PMNs de bezerros foram estimulados com *S. aureus* e *E.coli*, foi verificada uma influência positiva da ingestão do colostro no desencadeamento da explosão respiratória, o que não foi observado no presente estudo.

Azedo (2007) trabalhando com vacas infectadas e não infectadas por vírus da leucose enzoótica bovina (VLEB) não observou diferenças na produção de peróxido de hidrogênio de leucócitos totais não estimulados, nos animais negativos e positivos sem linfocitose persistente. Em contrapartida, os animais com linfocitose persistente apresentaram uma menor atividade basal dos leucócitos totais, provavelmente por estarem representados em sua maioria, por linfócitos. Da mesma maneira, Souza (2010) no estudo do estresse oxidativo de PMNs sobre a resposta imune de bovinos infectados pelo VLEB observou que a produção intracelular de peróxido de hidrogênio basal não diferiu entre os bovinos infectados naturalmente pelo VLEB manifestando ou não linfocitose persistente e que a utilização de estímulo de bactérias como o *S.aureus* e *E.coli* não influenciou o metabolismo oxidativo desses animais.

Desta forma, os resultados encontrados neste estudo para o metabolismo oxidativo basal estão de acordo com os trabalhos retro citados, ou seja, a liberação de peróxido de hidrogênio de PMNs do sangue não estimulado não se altera, a menos que ocorram alterações orgânicas que levem a um estímulo ou inibição deste processo no organismo animal.

A comparação entre a resposta de PMNs não estimulado (metabolismo basal) e após cada um dos estímulos utilizados (*S. aureus* e *E.coli*) mostrou um aumento significativo na intensidade de fluorescência quando as células foram incubadas com *S. aureus*, tendo maior liberação de peróxido de hidrogênio nos tempos t0, t1 e t4, ou seja, o estímulo com *S. aureus* provocou uma

melhor resposta mesmo antes da ingestão de colostro. No período entre 3 a 8 dias (t2 e t3) notou-se que esta diferença entre basal e estimulado desaparece voltando a aumentar após 15 dias de vida (t4). Diferente do resultado observado para *S. aureus*, a utilização da *E.coli* não se mostrou uma boa indutora do metabolismo oxidativo independente da ingestão de colostro de cabra.

No estudo de Bohland (2008), comparando as respostas de PMNs não estimulado e após estimulação por *S. aureus* e *E. coli*, evidenciou-se que a incubação das células com *S. aureus* desencadeou uma resposta significativa com maior liberação de H_2O_2 das células independente da ingestão do colostro até os seis primeiros dias de vida dos bezerros, mostrando que o *S. aureus* foi um bom desencadeador da produção de peróxido de hidrogênio pelas células estimuladas, não havendo necessidade de opsonização prévia da bactéria por imunoglobulinas do colostro. Estes achados concordam com os deste estudo, que apresentou os maiores valores antes e após a ingestão do colostro (t0, t1 e t4). Para a *E. coli* por sua vez, a opsonização após a ingestão do colostro foi fundamental para o estímulo do metabolismo oxidativo de PMNs entre dois a 10 dias de vida no estudo realizado em bezerros, se contrapondo aos resultados encontrados neste estudo em caprinos onde a bactéria não estimulou o metabolismo oxidativo.

Outros autores utilizaram a redução do tetrazólio de nitroazul (NBT) como método para avaliar o metabolismo oxidativo dos neutrófilos. Ciarlini et al. (2002) estudaram o metabolismo oxidativo de neutrófilos em ovelhas naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais e a correlação entre teores séricos de cortisol e carga parasitária, observando que os valores de neutrófilos redutores de NBT da primeira, terceira e quarta semana de lactação foram significativamente inferiores aos de alguns momentos do período pós desmame, indicando que o metabolismo oxidativo dos neutrófilos no início da lactação ficou diminuído, concluindo que animais com menor carga parasitária apresentam neutrófilos com maior capacidade de redução do tetrazólio nitroazul (NBT), ou seja, melhor resposta do sistema imune ante infecções. Costa et al. (2008) estudando o metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bezerros das raças Nelore e Limousin nos primeiros quatro meses de vida, concluíram que o metabolismo oxidativo dos neutrófilos dos bezerros se modifica com a idade, ocorrendo aumento da capacidade oxidativa ao longo do tempo. Os PMNs dos bezerros Limousin apresentaram maior capacidade de redução de NBT do que os bezerros Nelore após 2 meses de vida, ou seja, que com a evolução da idade a resposta imune melhora. No presente estudo verificando os valores do metabolismo oxidativo

estimulados por *S. aureus* e *E. coli* não foi possível observar claramente o aumento da capacidade oxidativa com o avançar da idade (t4).

Menge et al. (1998) utilizando dois estímulos, *E. coli* e PMA, compararam o metabolismo oxidativo dos fagócitos de bezerros neonatos, com o de animais com idades entre três a nove semanas. As células dos recém nascidos apresentaram maior intensidade de fluorescência quando comparada a dos animais mais velhos. Ao induzirem o metabolismo oxidativo utilizando *E.coli* verificaram diminuição em relação ao grupo com ingestão do colostro quatro horas após o nascimento. Esses autores concluíram que o sistema imune dos recém nascidos não é tão imaturo, sendo muitas vezes compensado por uma atividade fagocítica mais eficiente. Neste estudo os resultados encontrados para *S. aureus* são concordantes com as afirmações do autor acima, entretanto não encontrou-se os mesmos resultados quando utilizou-se a *E. coli* como estímulo.

A atividade fagocítica dos PMNs do sangue de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” para *S. aureus*, apresentaram discreto aumento na intensidade de fluorescência com maior magnitude em oito dias (t3), porém não significativa. O percentual de fagocitose de PMNs do sangue estimulados por *S.aureus* apresentou um discreto aumento (não significativa) após a ingestão do colostro (t1). Os resultados da atividade fagocítica dos PMNs estimulada pela *E.coli*, mostraram que a intensidade de fluorescência foi maior e significativa após a ingestão do colostro (t1 a t4), ou seja, o colostro foi de grande importância para estimular a fagocitose da *E. coli*. O percentual de fagocitose não diferiu entre os tempos. Isto mostra que a fagocitose para *S. aureus* não dependeu da ingestão de colostro, apesar do percentual de bactérias fagocitadas ter maior magnitude após a sua ingestão. Por outro lado, a intensidade de fluorescência para a *E. coli* foi maior após a ingestão do colostro, porém o percentual de bactérias fagocitadas não se alterou com a idade. Ou seja, o colostro estimulou os neutrófilos que devem ter fagocitado um maior número de bactérias, mas não foi tão efetivo para que um maior número de células fagocitassem, tal como as células estimuladas por *S. aureus*.

Bernadina et al. (1991) avaliando a atividade da opsonização e a capacidade fagocítica dos neutrófilos de ovinos, antes e 2 dias após a ingestão do colostro de ovelha, verificaram que a atividade de fagocitose foi mais eficiente após a ingestão do colostro, concluindo que essa capacidade fagocítica é suficiente para fornecer proteção ao recém nascido nesse período neonatal. O percentual de fagocitose dos PMNs deste estudo também foi maior após a ingestão de colostro quando utilizada a *S. aureus*. Da mesma forma, a estimulação dessas células com *E. coli*

promoveu uma maior intensidade de fluorescência após a ingestão de colostro.

Os resultados do trabalho de Bohland (2008), que avaliou a atividade fagocítica de PMNs utilizando o *S. aureus* em bezerros neonatos foram divergentes dos obtidos nesta pesquisa com o estímulo com *S. aureus*, pois verificou que tanto a intensidade de fluorescência como a porcentagem de fagocitose foi maior após a ingestão do colostro, mostrando a importância do colostro e indiretamente de suas opsoninas na atividade fagocítica dos PMNs de bezerros neonatos. A pesquisadora observou também que a *E. coli* não se revelou boa indutora da fagocitose para PMNs do sangue de bezerros neonatos após ingestão do colostro, comportamento oposto ao observado neste trabalho.

6.2 ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS NO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS – GRUPO 2

Os resultados da atividade funcional basal dos PMNs obtidos para os cabritos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos, não apresentaram diferenças estatísticas conforme a faixa etária, dessa forma pode-se dizer que a presença das imunoglobulinas do colostro não exerceu influência sobre a produção espontânea de peróxido de hidrogênio.

A indução da explosão respiratória, utilizando como estímulo o *S. aureus* e a *E. coli* revelou aumento da intensidade de fluorescência dos fagócitos PMNs após a ingestão do colostro, sendo significativa a partir do tempo t3, indicando uma influência positiva da ingestão das imunoglobulinas colostrais, na opsonização da bactéria e indução da explosão respiratória aos oito dias p.n.. Assim, pode-se afirmar que o manejo do colostro com aquecimento a 56°C por 60 minutos interfere positivamente sobre a eficiência dessa resposta. Cabe mencionar que os teores de IgG e o número total de neutrófilos deste grupo (G2) foram semelhantes aos do grupo que ingeriu colostro “in natura”(G1), mostrando uma possível influência positiva do aquecimento do colostro sobre a atividade dessas células. No estudo de Bohland (2008), as respostas de PMNs não estimulado e após estímulos (*S. aureus* e *E. coli*) mostraram que tanto a incubação com *S. aureus* quanto aquela com *E. coli* aumentaram a intensidade de fluorescência dos fagócitos após a ingestão do colostro, indicando a influência positiva da opsonização e das imunoglobulinas

colostrais para o desencadeamento da explosão respiratória. No presente estudo verificou-se resultados semelhantes para *E.coli*, mas divergentes para *S. aureus*, que precisou do colostro para responder ao estímulo.

A comparação entre os resultados do metabolismo basal e estimulado por *S. aureus* e *E.coli*, revelou que a ingestão de colostro aquecido provocou uma melhor resposta dos PMNs de cabritos neonatos em relação ao metabolismo oxidativo dessas células. Elizondo-Salazar e Heinrichs (2009) utilizando colostro tratado pelo calor na alimentação de bezerras verificaram, por meio da quantificação das imunoglobulinas no soro e no colostro, que o aquecimento promove a redução da concentração de bactérias, mas não interfere com a concentração de IgG, constatando ainda que animais alimentados com colostro aquecido apresentaram melhores resultados de absorção das imunoglobulinas do que aqueles que ingeriram o colostro “in natura”, concordando com os resultados da presente pesquisa.

Na atividade fagocítica de PMNs estimulados pelo *S. aureus*, apesar de não ter havido alterações significativas, a resposta celular após a ingestão do colostro foi maior e permaneceu elevada ao longo do tempo. O mesmo ocorreu para o percentual de fagocitose que teve seu valor máximo (82,2%) após a ingestão do colostro. Neste grupo foi possível observar que embora a ingestão de colostro não seja necessária, este manejo do recém nascido melhora a resposta celular frente a esta bactéria. Quando esta atividade foi estimulada por *E.coli* observou-se aumento da intensidade de fluorescência de PMNs após a ingestão do colostro (t1), tendo valor máximo no tempo t3, permanecendo constante até o tempo t4, notando-se a influência positiva da ingestão do colostro. O percentual de fagocitose estimulado por *E.coli* apresentou diferença significativa após a ingestão do colostro, tendo seu valor máximo em t1, não se observando esta diferença nos demais tempos, ou seja, fica evidente a importância da ingestão das imunoglobulinas do colostro para promover a fagocitose por *E.coli*.

Fernández et al. (2006), estudando a influência do colostro de cabra tratado pelo calor, a 56°C por 30 minutos, sobre a função imunitária de cabritos neonatos verificaram que o percentual de fagocitose após o aquecimento do colostro, não diferiu do grupo que recebeu colostro “in natura”, apesar da diminuição dos teores de IgGs dos animais que receberam colostro tratado. Resultados semelhantes foram encontrados por Loste et al. (2008) trabalhando com colostro de ovelhas tratado pelo calor. Todavia, os resultados desta pesquisa concordam parcialmente com os desses autores, dado que a resposta celular estimulada por *S. aureus* também não diferiu dos

achados para os animais que ingeriram colostro “in natura” (G1). Entretanto, a utilização do colostro tratado pelo calor mostrou um aumento significativo do percentual de fagocitose para *E. coli*, sugerindo portanto, que o tratamento do colostro pelo calor é um manejo adequado que preserva de forma satisfatória as imunoglobulinas (Igs) e permite induzir a opsonização celular, favorecendo a resposta inata do sistema imune dos neonatos.

6.3 ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS NO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS – GRUPO 3

O metabolismo oxidativo basal dos animais que ingeriram colostro de vaca “in natura”, não apresentou diferenças estatísticas conforme a faixa etária. Os resultados encontrados mostraram que a explosão respiratória dos PMNs não estimulada não foi afetada pela ingestão do colostro, ou seja, a presença das imunoglobulinas do colostro não exerceu influência sobre o metabolismo oxidativo basal.

Costa et al. (2008) estudando o metabolismo oxidativo de bezerros das raças Nelore e Limousin nos quatro primeiros meses de vida verificaram que a capacidade oxidativa foi menor nos bezerros recém nascidos e aumentou com o avançar da idade. Essa menor capacidade oxidativa dos neutrófilos pode ser um fator predisponente a ocorrência de doenças. Entretanto, devem-se levar em conta outros mecanismos de defesa, como a grande quantidade de imunoglobulinas adquiridas pelo colostro, o maior número de neutrófilos circulantes e a sua maior capacidade fagocitária quando comparados a animais adultos.

O metabolismo oxidativo induzido por *S. aureus*, não aumentou após a ingestão do colostro, ou seja, neste grupo não se observou a influência da ingestão do colostro sobre o metabolismo oxidativo estimulado por essa bactéria. Entretanto ao se analisar o metabolismo oxidativo induzido por *E.coli* notou-se uma diminuição significativa deste no tempo t2, em relação aos valores encontrados nas primeiras 48 horas p.n.. Esta diminuição da intensidade de fluorescência também foi observada tanto no metabolismo basal como no estimulado por *S. aureus* em t2, no entanto os valores voltaram a se elevar após o tempo t3, sugerindo a necessidade de estudos adicionais.

A comparação entre as respostas de PMNs não estimulados e após o estímulo por *S. aureus* medidas pela média da intensidade de fluorescência destas células, mostrou um aumento do metabolismo oxidativo após a ingestão de colostro que permaneceu elevado até t3 (2 a 8 dias p.n.). A comparação entre o metabolismo basal e o estimulado por *E.coli* foi maior de t0 a t4 e independente da ingestão do colostro em todas as idades.

Menge et al. (1998) ao estudar bezerros neonatos identificaram que a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelos PMNs estimulados por *E.coli* foi maior antes da ingestão de colostro para os animais recém nascidos do que para os animais com idades entre 3 a 9 semanas, concordando com os resultados deste estudo. No estudo de bezerros neonatos realizados por Bohland (2008), na comparação entre as respostas de PMNs não estimulado e após estímulos (*S. aureus* e *E. coli*), mostrou aumento da intensidade de fluorescência ao utilizar a *S. aureus*, independente da ingestão do colostro, e ao estimular o metabolismo oxidativo por *E. coli*, houve o aumento da intensidade de fluorescência dos fagócitos após a ingestão do colostro (t1), ou seja, a ingestão do colostro favoreceu uma melhor resposta do sistema imune ante esta última bactéria. Estes resultados divergem dos obtidos no presente estudo no qual a ingestão do colostro foi fundamental para *S. aureus*, mas não para *E. coli*. Esta constatação sugere uma menor suscetibilidade dos caprinos a infecções por *E. coli* conforme destacaram Orden et al. (2002).

A avaliação da atividade fagocítica de PMNs do sangue de cabritos neonatos quando utilizadas o *S. aureus* e a *E.coli* não apresentou alteração na intensidade de fluorescência nem no percentual de fagocitose em relação à ingestão do colostro, ou seja, a mamada do colostro de vaca “in natura” não contribuiu para o aumento da fagocitose. Cabe também registrar o fato de que o uso de leite de cabra para alimentar estes animais pós mamada do colostro não interferiu na resposta imune observada, considerando-se que a quantidade de linfócitos e células somáticas (CS) diminuiu significativamente durante o período de lactação (WINNICKA et al., 1999).

Zecconi et al. (1994) estudando a atividade fagocítica dos leucócitos PMNs do leite de bovinos concluíram que a Zymosan (Sigma Itália. 20100 Milan) se mostrou mais eficiente na estimulação da resposta fagocítica do que o *Streptococcus uberis* (*Str. uberis*) e a *E. coli*, podendo esse resultado ser atribuído à incapacidade dessas bactérias em ativar corretamente o metabolismo oxidativo ou ainda, prejudicarem a eficiência do metabolismo oxidativo ao interagir com os receptores de membrana dos PMNs.

O colostro bovino ao ser fornecido para os neonatos caprinos pode ser uma medida alternativa valiosa, entretanto é recomendável como destacado por Silva (2005) que as vacas doadoras do colostro pertençam ao mesmo ambiente dos caprinos para que os anticorpos maternos colostrais sejam relacionados aos microorganismos locais e possam ter eficiência na defesa orgânica. Os neonatos deste experimento foram alimentados com colostro originado de vacas criadas em fazenda próxima a São Paulo, podendo este fator ter influenciado as respostas obtidas neste grupo. Necessitando assim de estudos adicionais.

6.4 ATIVIDADE FUNCIONAL DE PMNS NO SANGUE DE CABRITOS NEONATOS - GRUPO 4

Os animais que não ingeriram colostro, não apresentaram diferenças relacionadas ao metabolismo oxidativo basal e estimulado com *S. aureus* de PMNs de sangue de cabritos, em nenhuma das faixas etárias. Na indução do metabolismo oxidativo pelo *E.coli* observou-se um significativo aumento na resposta após o tempo t3 (7 - 8 dias p.n.), comportamento que precisa ser melhor esclarecido. Cabe destacar que esta mesma ascensão do metabolismo foi observada também para os demais grupos podendo estar relacionada com a idade, exceto para o grupo que ingeriu colostro de vaca “in natura”, cujo desempenho do metabolismo não foi satisfatório.

Bohland (2008) estudando a influência do volume de colostro mamado e da idade sobre a atividade funcional de PMNs do sangue de bezerros neonatos, concluiu que nos animais que não ingeriram colostro o metabolismo oxidativo basal e estimulado por *S. aureus* e *E. coli* não apresentou diferenças relacionadas à idade. Mostrando desta forma, a influência positiva da administração do colostro como fator desencadeador do metabolismo oxidativo.

A comparação do metabolismo oxidativo basal e induzido por *S. aureus* mostrou diferenças significativas em todos os tempos, destacando que a ingestão do colostro não é necessária para estimular o metabolismo oxidativo pelo *S. aureus*. Em relação a *E.coli*, comparando a intensidade de fluorescência do metabolismo oxidativo basal com o induzido pela bactéria verificou-se aumento significativo após a ingestão do leite e com o avançar da idade (t0,

$p < 0,1$). Estes resultados podem ser interpretados como indícios de um desenvolvimento precoce do sistema imune dos pequenos ruminantes, demandando novos estudos.

Bohland (2008) estudando a influência do volume de colostro mamado e da idade sobre a atividade funcional de PMNs do sangue de bezerros neonatos na comparação da resposta do metabolismo oxidativo basal e induzido por bactérias, mostrou que o *S. aureus*, como o PMA aumentaram a produção de EROs em todas as faixas etárias, mostrando que a opsonização não é essencial para que ocorra uma maior liberação de peróxido de hidrogênio pelos PMNs do sangue de bezerros neonatos. No presente estudo, em linhas gerais, observou-se o mesmo comportamento, em relação a *S. aureus* e *E. coli*. Bohland (2008) ao induzir o metabolismo oxidativo utilizando a *E. coli*, verificou um aumento da atividade basal após t3, atribuindo este fato ao uso de antibióticos que poderiam ter refletido em uma melhor resposta celular.

Os resultados referentes à fagocitose dos PMNs do sangue de cabritos neonatos que não ingeriram colostro ao nascer, medida pela intensidade de fluorescência, induzida pelas bactérias *S. aureus* e *E. coli*, não apresentaram diferenças significativas para a fagocitose tanto por *E. coli* como por *S. aureus* sendo semelhantes em todas as faixas etárias. O percentual de fagocitose estimulada por *S. aureus* não diferiu ao longo do tempo, mantendo-se com valores relativamente constantes. A fagocitose medida pela intensidade de fluorescência e pela porcentagem mostrou ascensão dos valores conforme a evolução da idade quando utilizado o estímulo pela *E. coli*, no entanto sem significância estatística. Novamente observam-se indícios da influência do fator etário para o desenvolvimento do sistema imune dos neonatos. Estes resultados corroboram com os achados de Bohland (2008) em estudo com bezerros neonatos, que no geral ressaltam a importância do colostro para os fagócitos PMNs.

O presente estudo analisou a resposta imune de cabritos neonatos “in vitro” estimulados por *S. aureus* e por *E. coli* segundo a idade e quatro diferentes manejos colostrais. Os resultados do metabolismo oxidativo mostraram um melhor desempenho do manejo colostrais dos animais pertencentes ao grupo que ingeriu colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos, principalmente em relação ao estímulo da *E. coli*. Em relação à intensidade de fluorescência e o percentual de fagocitose observou-se um mesmo comportamento, ou seja, o melhor desempenho do colostro aquecido destacou-se em relação ao do colostro “in natura”. Em resumo, estes resultados sugerem que o tratamento do colostro pelo calor é uma prática a ser incentivada para uso no setor produtivo, visando o aumento do desempenho do rebanho caprino.

6.5 EXAMES COMPLEMENTARES

Para a adaptação ao meio extra-uterino, logo após o nascimento o recém nascido é submetido a extensas mudanças nos padrões respiratórios e circulatórios. Esse processo adaptativo é dependente da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal do neonato, que é mediado principalmente pelo cortisol, um potente estimulador do metabolismo (WOOD, 1999). Os valores médios de cortisol neste estudo se mostraram elevados ao nascimento, sendo o do grupo 2 o mais baixo ($6,94 \pm 1,55$ ng/dl) e aqueles observados nos grupos 1, 3 e 4 variaram de $9,97 \pm 3,45$ ng/dl a $13,46 \pm 7,26$ ng/dl. Os teores de cortisol após a ingestão do colostro nos tempos t1 a t4 nos animais pertencentes aos grupos 1, 2 e 3, diminuíram ao longo do tempo. Entretanto a queda no grupo 2 foi mais lenta quando comparada aos grupos G1 e G3. No grupo 4 verificou-se uma discreta elevação nos teores de cortisol no tempo (t1), e somente depois disso as taxas foram diminuindo até o tempo t4. Benesi (1992) em estudo com bezerros neonatos acometidos ou não por asfixia neonatal verificou elevados teores de glicocorticóides, imediatos ao nascimento, mesmo em animais sem asfixia, caracterizando o estresse do nascimento. Em bezerros nascidos com asfixia precoce as taxas foram superiores às daquelas não acometidas pela afecção. As concentrações dos corticóides caíram no decorrer das 72 horas p.n.. Em estudo realizado por Gasparelli et al. (2009) que avaliou os teores séricos de cortisol de bezerros neonatos da raça Nelore, nascidos de parto normal ou distócico, observaram que em bovinos o estresse do parto distócico pode ser um potencializador das altas taxas de cortisol. O comportamento observado no presente estudo foi de altos teores de cortisol ao nascimento ($9,85 \pm 0,31$ ng/dl) e que diminuíram nas 24 horas p.n.. Os achados desta pesquisa evidenciaram comportamento similar de elevação e queda dos valores de cortisol nos neonatos caprinos componentes de todos os grupos do estudo.

Entretanto, Paiva et al. (2006) estudando o efeito do manejo para fornecimento do colostro na imunidade passiva, nos teores de cortisol e de metabolitos plasmáticos em bezerros holandeses verificaram que após a ingestão do colostro as taxas de cortisol permaneceram relativamente estáveis, possivelmente devido a menor mobilização das reservas corporais do bezerro neste fase, não havendo influência dessa ingestão. Observou também, que os teores de cortisol plasmático não estavam elevados após o desmame, indicando que essa prática não causou estresse fisiológico nos animais estudados. Estes achados são divergentes daqueles obtidos neste

estudo para cabritos recém nascidos, no qual nos animais de todos os grupos se observou um decréscimo dos teores de cortisol com a evolução do período dos primeiros 15 dias p.n..

Os resultados referentes ao número total de leucócitos do sangue de cabritos neonatos mostraram diferenças em relação a idade. No grupo 2 ocorreu um aumento no número total de leucócitos quatro dias após a ingestão do colostro (t2). Os animais do grupo 3 tiveram aumento significativo do número total de leucócitos no tempo t4. Os animais que não ingeriram colostro apresentaram um discreto aumento no número total de leucócitos de 8 a 15 dias de vida (t3 e t4). Comparando as médias dos resultados em cada uma das faixas etárias observou-se que no tempo t0 os animais do grupo 3 apresentaram os maiores valores de leucócitos no sangue. Ao comparar o número total de leucócitos após a ingestão do colostro verificou-se que o grupo 3 apresentou o valor mais elevado e em contrapartida, os animais do grupo 4 (que ingeriram apenas leite) apresentaram o menor valor de leucócitos no sangue. Ao comparar o número total de leucócitos de 7 a 15 dias de vida observou-se que o grupo 3 apresentou os maiores valores, enquanto o grupo 2 mostrou nestes momentos os menores valores de leucócitos sanguíneos. Apesar das variações, os números descritos nesta pesquisa apresentaram em todos os grupos médias semelhantes às relatadas na literatura para animais adultos (PUGH, 2004; SMITH e SHERMAN, 1994).

Santos (2005) no estudo da influência do uso de plasmaferese sobre o tempo de recuperação de caprinos doadores de sangue ou plasma verificou valores de leucócitos totais também semelhantes àqueles descritos neste estudo para os animais dos grupos (G1, G2 e G4). Entretanto, Souza et al. (2008) estudando a resposta fisiológica de caprinos de diferentes grupos genéticos do semi-árido paraibano verificaram que a contagem do número total de leucócitos ficou em torno de $12,0 \times 10^3 \text{ mm}^3$, valor superior aos constatados nesta pesquisa, com exceção daqueles do grupo 3, que apresentou valores mais elevados que os dos demais grupos. Os valores médios do número de neutrófilos PMNs, considerando todos os grupos do estudo, variaram de $0,95 \pm 0,47$ a $6,4 \pm 3,9 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Santos (2005) e Souza et al. (2008) realizando a contagem diferencial de leucócitos em caprinos observaram que o número total de neutrófilos variou de $2,0 \times 10^3$ a $6,0 \times 10^3$ e de $3,0 \times 10^3$ a $5,5 \times 10^3$, respectivamente, estando estes valores próximos aos encontrados nesta pesquisa.

Costa et al. (2008) destacaram que o número elevado de neutrófilos circulantes nos bezerros neonatos parece estar relacionado com os altos teores séricos de cortisol nesta fase

inicial de vida. A concentração do hormônio apresenta grande declínio nos primeiros dias p.n. e continua a diminuir até aproximadamente 12 dias, sendo acompanhada pela queda da contagem de neutrófilos e aumento dos linfócitos, ocorrendo a chamanda inversão da relação neutrófilo:linfócito aos 15 dias de vida.

No presente estudo observou-se variações do cortisol que acompanharam aquelas destacadas por Benesi (1992) e por Costa et al. (2008) em bezerros neonatos, porém divergiu no comportamento dos números de neutrófilos PMNs observado neste estudo que apresentaram os menores valores nas primeiras 48 horas p.n. quando os teores de cortisol foram os mais elevados. A seguir apresentaram certa estabilidade dos números nos grupos 1, 2 e 4 até o tempo t4, com concomitante queda das taxas de cortisol que atingiram valores mínimos nesse último tempo. Também não se observou claramente a mencionada inversão da relação neutrófilo:linfócito nos grupos de cabritos da pesquisa, quando por influência da queda dos teores de cortisol os linfócitos passariam a predominar sobre os neutrófilos conforme assinalada por Benesi (1992) e Costa et al. (2008) em bezerros.

A determinação de componentes do proteinograma, da atividade sérica de GGT e da dosagem das imunoglobulinas G e M, tiveram como intuito certificação de que os animais utilizados no experimento não haviam ingerido colostro no momento t0 e que pertenciam aos grupos correspondentes.

Em relação aos valores séricos de proteína total (P.T.) observou-se que foram menores para os grupos 1, 2 e 3 antes da ingestão do colostro, para a seguir aumentarem em t1 e se manterem constantes até t4. Os animais pertencentes ao grupo 4 apresentaram valores estáveis com um discreto aumento no valor de proteína total no tempo t4. Os resultados apontados nesta pesquisa mostram que os teores séricos de proteína total no sangue de cabritos neonatos apresentam uma correlação direta com a ingestão do colostro. Comparando-se os teores de proteína total entre os grupos, em cada faixa etária, aqueles que ingeriram colostro de cabra “in natura” ou aquecido obtiveram os valores mais elevados.

Os resultados desta pesquisa apresentam comportamento semelhante aos encontrados por Feitosa et al. (2006) que observou maiores valores de proteína total em neonatos da espécie bovina quando comparados com os da caprina (5,46g/dl). Barioni (2003), por sua vez, estudando a influência da idade sobre o proteinograma de cabritos verificou valores de proteína total entre 4,21 e 5,78g/dl, próximos aos demonstrados neste estudo. Santana et al. (2003) avaliando a

transferência de imunidade em cabritos neonatos e Simões et al. (2005) comparando os resultados do fornecimento de diversas quantidades de colostro em diferentes tempos obtiveram teores de proteína total antes da ingestão do colostro inferiores aos encontrados neste trabalho (4,00 g/dl) e, após a ingestão do colostro, valores que foram semelhantes aos desta pesquisa (5,5 a 7,0 g/dl). Lima et al. (2009) em estudo comparativo da absorção de anticorpos em cabritos recém nascidos utilizando colostro de vaca e de cabra, concluíram que o colostro de cabra pode ser substituído pelo de vaca sem grandes problemas.

Os valores séricos de albumina não apresentaram diferenças estatísticas em função do tempo e na comparação entre grupos, encontrando-se próximos aos valores verificados por Barioni (2003), Santana et al. (2003) e Simões et al. (2005) mostrando não ter apresentado influência da ingestão do colostro ou leite sobre seus valores.

Os valores séricos obtidos para a fração alfa globulina não apresentaram diferenças estatísticas, assemelhando-se aos valores encontrados por Barioni (2003) e Simões et al. (2005). O comportamento com diferença estatística no tempo t1, entre valores dos grupos 2 e 3, maiores do que os do grupo 4, podem ser reflexo dos maiores teores desta globulina no colostro de cabra ou vaca.

Em relação aos valores séricos da fração beta globulina apenas apresentaram diferença significativa para os animais pertencentes ao grupo 4, no tempo t4 em relação aos demais grupos de t0 a t2. A comparação entre os grupos nos diferentes tempos não demonstrou diferenças significantes. Os valores desta fração proteica concordaram com aqueles encontrados por Barioni (2003) e Simões et al. (2005).

Na fração das gama globulinas séricas onde se encontram grande parte das imunoglobulinas, pode-se observar aumentos dos teores após a ingestão do colostro (t1) nos grupos G1, G2 e G3, a seguir mantendo-se estáveis no grupo 1 e 2, e tendo um declínio e estabilidade no grupo 3 a partir do tempo t2. Os animais do grupo 4 apresentaram baixas taxas de gama globulinas durante todo experimento. Os trabalhos descritos por Simões et al. (2005) e Feitosa et al. (2006) apresentaram valores após ingestão de colostro que são similares com os achados neste experimento.

Considerando as frações globulinicas, beta e gama, particularmente no momento t4 nos animais do grupo 4, verifica-se que apresentaram aumentos significativos que podem refletir provável produção ativa e mais precoce dessas globulinas, que incluem as imunoglobulinas nesse

grupo que não mamou colostro e que não sofreu a interferência da imunidade passiva impediendo dessa produção ativa, tal como verificada por Borges (1997) em bezerros neonatos que não mamaram colostro.

O comportamento da atividade sérica de gamaglutamiltransferase (GGT) foi bem peculiar, antes da ingestão do colostro (t0) todos os grupos apresentaram valores mínimos. Valores máximos foram alcançados após a ingestão de colostro ou leite no tempo t1, tendo a seguir um decréscimo em suas taxas séricas. O grupo que apresentou a maior atividade da gamaglutamiltransferase no t1 foi o grupo 3, que ingeriu o colostro de vaca, denotando a riqueza com que esta enzima está presente no colostro bovino. Feitosa et al. (2006), estudando a atividade sérica GGT de bezerros constatou os altos teores dessa enzima imediatamente após a ingestão do colostro, seguindo com decréscimo gradativo, demonstrando o mesmo comportamento observado nesta pesquisa. Silva, Fagliari e Cesco (2004) ao compararem a atividade sérica da GGT de caprinos das raças Anglo-Nubiana e Saanen verificaram aos 15 dias de vida valores semelhantes aos descritos nesta pesquisa. Por sua vez, Barioni (2003) descreve valores séricos de GGT em cabritos que foram superiores aos descritos neste trabalho. A atividade sérica da GGT pode servir como indicador da qualidade da mamada de colostro, porém não refletirá necessariamente em cabritos que receberam colostro bovino, o grau de imunidade passiva colostrar estabelecido.

Na determinação da imunoglobulina G (IgG) observou-se que devido a sensibilidade do teste de ELISA foi possível quantificar valores mínimos destas imunoglobulinas no momento pré mamada do colostro, possibilitando constatar que estes recém nascidos nascem com uma quantidade insignificante de imunoglobulinas. Esses valores estão de acordo com aqueles encontrados por Rodriguez et al. (2009) que também utilizou a técnica de ELISA para determinação destas proteínas. Barioni (2003) utilizando a técnica de radiomunoensaio não detectou quantidades de proteínas antes da ingestão do colostro, porém os demais valores por ela descritos corroboram com os achados neste estudo.

Ao avaliar colostros que poderiam ser usados como alternativa na substituição do colostro natural de cabras, Silva (2005) considerou como substitutos adequados tanto o colostro de vaca como o de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos, o que não pode ser verificado neste estudo em que o melhor substituto foi o colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos, com o qual os animais apresentaram as melhores respostas imunes e valores adequados de IgGs.

Arguello et al. (2004a) no estudo do efeito de práticas de administração de colostro sobre as taxas séricas de IgG de cabritos recém nascidos, verificaram que a quantidade de IgG consumida apresenta uma correlação positiva com a concentração de IgG presente no sangue especialmente nas primeiras 72 horas após a ingestão do colostro. Esta informação vem a reforçar ainda mais a necessidade do fornecimento do colostro de boa qualidade para os neonatos nas primeiras horas de vida, para que eles possam assim se defender de futuras infecções.

Os valores de imunoglobulina M (IgM) nos grupos que ingeriram colostro de cabra (G1 e G2) após o tempo t0 apresentaram valor máximo no tempo t1, iniciando em t2 uma queda gradativa até o tempo t4. O grupo 3 que ingeriu colostro de vaca “in natura” apresentou os teores de IgM mais baixos e com ligeiras oscilações ao longo de todo o período experimental. Rodriguez et al. (2009) no estudo do efeito da concentração de imunoglobulinas do colostro na imunidade de cabritos recém nascidos, utilizando técnica de ELISA, e padronizando quatro colostros com diferentes teores de concentrações de imunoglobulinas, verificaram que os teores séricos de IgM ao nascimento são elevados e que após o primeiro dia da ingestão do colostro estes teores diminuem gradativamente. Verificaram que o colostro padronizado com maior teor de imunoglobulinas permaneceu com os valores de IgM constantes por um período mais prolongado. Neste estudo o comportamento observado foi semelhante nos neonatos que ingeriram colostro observando aumento dos teores da IgM após a ingestão do colostro seguido por queda.

Os resultados das taxas de IgM obtidas no grupo 4 (que só mamaram leite), evoluíram caracterizando um aumento significativo desta proteína em t3 e mantido em t4, confirmaram que os aumentos verificados nos mesmos momentos para as frações beta e gamaglobulinas, refletem o comportamento desta imunoglobulina indicando uma produção ativa e mais precoce de imunidade nos animais desse grupo, corroborando com as observações de Borges (1997) em bezerros neonatos.

7 CONCLUSÃO

Análise dos resultados obtidos com a metodologia empregada permitiu concluir que:

- a) o metabolismo oxidativo basal de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” não foi influenciado pela ingestão do colostro;
- b) o desencadeamento da explosão respiratória de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” induzido pela *S.aureus* foi melhor após a ingestão de colostro aquecido a 56°C por 60 minutos; a bactéria *S.aureus* estimulou o metabolismo oxidativo de PMNs de forma independente da ingestão do colostro;
- c) o metabolismo oxidativo de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro” induzido pela *E.coli* apresentou maior intensidade de fluorescência após ingestão do colostro aquecido a 56°C por 60 minutos; a *E.coli* não se mostrou uma boa indutora do metabolismo oxidativo nos animais que ingeriram colostro de cabra “in natura”
- d) Houve indícios de aumento da intensidade de fluorescência e do percentual de fagocitose para *S. aureus* em relação ao manejo de colostro de cabra “in natura” e de colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos; para a *E.coli* houve resposta imune tanto em relação a intensidade de fluorescência como para o percentual de fagocitose utilizando o colostro de cabra (“in natura” e aquecido a 56°C por 60 minutos);

- e) o fornecimento do colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos para cabritos recém nascidos foi o que demonstrou melhor resposta funcional dos PMNs (metabolismo oxidativo e fagocitose) ao utilizar um estímulo bacteriano, por *E. coli* em particular;
- f) A não mamada do colostro e conseqüente ausência de anticorpos maternos obtidos passivamente, na circulação dos cabritos, pode ter permitido uma resposta ativa mais precoce com produção de imunoglobulina (IgM em particular com aumento significativo de 7 a 15 dias p.n.);
- g) Não ficou esclarecida a influência da idade na atividade funcional de PMNs do sangue de cabritos neonatos “in vitro”;
- h) os resultados do presente estudo subsidiam propostas de melhoria do manejo da produção caprina baseada na utilização de colostro de cabra tratado pelo calor.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. A. B.; CIARLINI, P. C.; KUCHEMBUCK, M. R. G.; KOHAYAGAWA, A.; FELTRIN, L. P. Z.; CIARLINI, L. D. R. P.; LAPOSY, C. B.; MENDONÇA, C. L.; TAKAHIRA, R. K. Metabolismo oxidativo dos neutrófilos de ovinos tratados com a monensina sódica e experimentalmente submetidos á acidose ruminal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 4, p.129-168, 2002.
- ANDREASEN, C. B.; ROTH, J. A. **Neutrophil functional abnormalities**. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. Schalm's veterinary hematology. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 356-365.
- APTA- **Secretaria da agricultura e abastecimento/ instituto de economia agrícola**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br>>. Acesso em: 15 jul. 2008.
- ARGUELLO, A.; CASTRO, N.; CAPOTE, J.; GINÉS, R.; ACOSTA, F.; LÓPEZ, J. L. Effects of refrigeration, freezing-thawing and pasteurization on IgG goat colostrum preservation. **Small Ruminant Research**, v. 48, n. 2, p.135 -139, 2003.
- ARGUELLO, A.; CASTRO, N.; CAPOTE, J.; TYLER, J. W.; HOLLOWAY, N. M. Effects of colostrum administration practices on serum IgG in goat kids. **Livestock Production Science**, v. 90, n. 2-3, p. 235-239, 2004a.
- ARGUELLO, A.; CASTRO, N.; ZAMORANO, M. J.; CASTROALONSO, A.; CAPOTE, J. Passive transfer of immunity in kid goats fed refrigerated and frozen goat colostrums and commercial sheep colostrums. **Small Ruminant Research**, v. 54, n.3, p.237-241, 2004b.
- ARTHINGTON, J. Managing colostrum in the newborn calf. **Large Animal Practice**, Mission Viejo, v. 18, p. 29-33, 1997.
- AZEDO, M. R. **Influência da leucose Enzoótica bovina na atividade oxidativa de leucócitos**. 2007. 154 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- BACAL, N. S.; FAULHABER, M. H. W. **Aplicação prática em citometria de fluxo**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2003, 90p.
- BARIONI, G. **A influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol) sobre o hemograma, proteinograma, imunoglobulina G, fragilidade osmótica e metabolismo oxidativo eritrocitário em caprinos da raça Saanen**. 2003. 156 f. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista - Campus Botucatu, Botucatu, 2003.

BENCINI, R.; PULINA, G. The quality of sheep milk: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 37, n. 4, p. 485 - 504, 1997.

BENESI, F. J. Diarréia infecciosa neonatal dos bezerros. In: I Simpósio Pfizer sobre doenças infecciosas e vacinas para bovinos, 1996, São Paulo. **Anais**, 1996. p. 15-24.

BENESI, F. J. **Hematologia de bezerros recém-nascidos. Influência da asfixia neonatal, do tipo do parto e da ingestão de colostro sobre a crase sangüínea**. 1992. 126 f. Tese (Livre docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

BENESI, F. J. Síndrome asfixia neonatal dos bezerros: importância e avaliação crítica. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFBA**, v. 16, n.1, p. 38-48, 1993.

BERNADINA, W. E.; LEEUWEN, M. A.W; HENDRIKX, W. M. L.; RUITENBERG, E. J. Serum opsonic activity and neutrophil phagocytic capacity of newborn lambs before and 24-36h after colostrum uptake. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 29, n. 1-2, p. 127-138, 1991.

BERQUÓ, E. S.; SOUZA, J. M. P.; GOTLIEB, S. L. D. **Bioestatística**. 2. ed. São Paulo: EPU, 1981. 350 p.

BIRGEL, E. H. Hematologia Clínica Veterinária. In: BERGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 2-49.

BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J.; ARAÚJO, L. M. Influência dos fatores raciais, sexuais, etários e alimentares sobre as funções vitais de caprinos (*Capra hircus*) sadios criados no estado de São Paulo. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária de UFBA**, v. 13, n. 1, p. 89-111, 1990.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**, 7. ed. Rio de Janeiro: GuanabaraKoogan, 1991. 1263p.

BORGES, A. S. **Avaliação da eficiência da administração de plasma por via intravenosa, como tratamento da falência de transferência de imunidade passiva em bezerros da raça Holandesa**. 1997. 84 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

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

BORGES, A. S.; MENDES, L. C. N.; BENESI, F. J. Proteção natural para potros e bezerros. **Ciência Hoje**, v. 26, n. 151, p. 62-63, 1999.

BOHLAND, E. **Atividade funcional de polimorfonucleares do sangue de bezerros neonatos versus *Escherichia coli* “in vitro”**: influência do volume de colostro mamado e da idade. 2008. 166 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BOHLAND, E; D´ANGELINO, J. L. Artrite encefalite caprina: avaliação dos aspectos produtivos e reprodutivos de animais infectados e não infectados. **Brazilian Journal Veteterinary Research Animal Science**, v. 42, n. 2, p. 81-88, 2005.

BRITO, M. A.; GONZÁLEZ, F. D.; RIBEIRO, L. A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.; BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 942 - 948, 2006.

CASTRO, V. **A cabra**. 3. ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1984. 372 p.

CIARLINI, P. C.; CIARLINI, L. D. R. P.; ALENCAR, N. X.; HOHAYAGAWA, A.; RAGRIGUES, C. F. C. Metabolismo oxidativo de neutrofilos em ovelhas naturalmente infectadas por nematódeos gastrointestinais e correlacao entre os níveis sericos de cortisol e carga parasitaria. **Arquivos Brasileiros de Madicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 54, n.3, Belo Horizonte, 2002.

COSTA, M. C.; FLAIBAN, K. K. M. C.; CONEGLIAN. M. M.; DOGNANI, R.; VETTORATO, E. D.; BALARIN, M. R. S.; LISBOA. J. A. N. Metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bezerros das raças Nelore e Limousin nos primeiros quatro meses de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 9, p. 431-436, 2008.

ELIZONDO-SALAZAR. J. A.; HEINRICHS, A. J. Feeding heat-treated colostrum to neonatal dairy heifers: effects on growth characteristics and blood parameters. **Journal Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3265-3273, 2009.

FEITOSA, F. L. F. **Dinâmica do proteinograma e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de bezerros desde o nascimento até um ano de vida e de vacas antes e após o parto, da raça Holandesa**. 1998. 219 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

FEITOSA, F. L. F. Importância da transferência de imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. **Revista de Educação Continuada CRMV**, v. 2, n. 3, p. 17-22, 1999.

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

FEITOSA, F. L. F.; MENDES, L. C. N.; PEIRO, J. R.; CIARLINI, P. C.; MARQUES, F. J. TAKADA, L.; PERRI, S. H. Comparação do proteinograma e da atividade da gamaglutamiltrasferase no soro sanguíneo de bezerros e de cabritos após ingestão de colostro. **Ars Veterinaria**, v. 22, n. 1, p. 16-21, 2006.

FERNÁNDEZ, A.; RAMOS, J. J.; LOSTE, A.; FERRER, L. M.; FIGUERAS, L.; VERDE, M. T.; MARCA, M. C. Influence of colostrum treated by heat on immunity function in goat kids. **Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases**, v. 29, n. 5-6, p.353-364, 2006.

GASPARELLI, E. R. F.; CAMARGO, D. G.; YANAKA, R.; MENDES, L. C. N.; PEIRO, J. R.; BOVINO, F.; PERI, S. H. V.; FEITOSA, F. L. F. Avaliação física e dos níveis séricos de cortisol de bezerros neonatos da raça Nelore, nascidos de partos normais e auxiliados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n.1, p. 823-828, 2009.

GUIGUEN, F.; GREENLAND, T.; PARDO, E.; PANAYE, G.; MORNEX, J. F. Flow cytometric analysis of goat Milk lymphocytes: subpopulations and adhesion molecule expression, **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 53, n. 1-2, p.173-178, 1996.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of bíuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 177, n. 2, p.751 - 766, 1949.

HASUI, Y.; HIRABAYASHI .Y.; KOBAYSHI, Y. A. Simultaneous measurement by flow cytometry of phagocytosis and hidrogen peroxide production of neutrophils in whole blood. **Journal of Immunological Methods**, v. 117, n. 1, p. 53-58, 1989.

HODGSON, J. C. Eficiência do colostro substituto na prevenção de doenças em cordeiros recém nascidos. **A Hora Veterinária**, v.12, n. 69, p. 19-22, 1992.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Anuário Estatístico do Brasil**, v.56, 1996.

KAMPEN, A. H.; TOLLERSRUD, T.; LARSEN, S.; ROTH, J. A.; FRANK, D. E.; LUND, A. Repeatability of flow cytometric and classical measurement of phagocytosis and respiratory burst in bovine polymorphonuclear leukocytes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 97, n. 1-2, p. 405-414, 2004.

KANEKO, J. J.; CORNELIUS, C. E. **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1989. 932 p.

KOBAYASHI, S. D.; VOYICH. J. M.; DELEO. F. R. Regulation of the neutrophil-mediated inflammatory response to infection. **Microbes and Infection**, v.5, n. 14, p. 1337-1344, 2003.

LEAL, M. L.R.; BENESI, F. J.; LISBOA, J. A. N.; COELHO, C.S.; MIRANDOLA, R. M. S. Protein profile of healthy female Holstein calves during the first month after birth. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 40, n. 2, p.138-145, 2003.

LIMA, A. L.; PAULETTI, P.; SUSIN, I.; NETO-MACHADO, R. Flutuação das variáveis séricas em cabras e estudo comparativo da absorção de anticorpos em cabritos recém nascidos utilizando colostro bovino e caprino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 11, p. 2211-2217, 2009.

LISBÔA, J. A. N.; BENESI, F. J.; LEAL, M. L. R.; TEIXEIRA, C. M. C. Temperatura retal e frequências respiratória e cardíaca de bezerras sadias no primeiro mês de vida. **Veterinária Notícias**, v. 9, n. 2, p. 83-89, 2003.

LOSTE, A.; RAMOS, J. J.; FERNÁNDEZ, A.; FERRER, L. M.; LACASTA, D.; VERDE, M. T.; MARCA, M. C.; ORTÍN, A. Effect of colostrum treated by heat on immunological parameters in newborn lambs. **Livestock Science**, v. 117, n. 2-3, p. 176-183, 2008.

MASSOCO-SALLES GOMES, C. O.; PALERMO-NETO, J. Effects of midazolam on equine innate immune response: a flow cytometric study. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v. 95, n. 1-2, p.11-19, 2004.

MASSOCO-SALLES GOMES, C. O. **Receptores benzodiazepínicos periféricos e a resposta imune inata de eqüinos: efeito do midazolam**. 2003. 125 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MARTIN, W. B., AITKEN, I. D. **Disease of sheep**. 3. ed. Inglaterra: Blackwell Science Ltd. 2000. 512 p.

MEDEIROS, J. M.; TABOSA, I. M.; SIMÕES, S. V. D.; NOBREGA JÚNIOR, J. E.; VASCONCELOS, J. S.; RIET-CORREA, F. Mortalidade perinatal em cabritos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 201-206, 2005.

MENDES, A. C.R. Carne de caprinos e derivados: aspectos sócio-econômicos, sensoriais e nutricionais. **Revista Nacional da Carne**. n. 254, p.48-56, 1998.

MENGE, C. H.; NEUFELD, B.; HIRT, W.; SCHMEER, N.; BAUERFEIND, R.; BALJER, G.; WIELER, L. H. Compensation of preliminary blood phagocyte immaturity in the newborn calf. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 62, p. 309-321, 1998.

NAKAGE, A. P. M.; SANTANA, A. E.; DE CÁPUA, M. L. B.; COELHO, P. S. Metodologia e aplicação da citometria de fluxo na hematologia veterinária. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 966-973, 2005.

O'BREIN, J. P.; SHERMAN, D. M. Serum immunoglobulin concentrations of newborn goat kids and subsequent kid survival through weaning. **Small Ruminant Research**, v. 1, n. 11, p. 71-77, 1993.

ORDEN, J. A.; QUITERIA, J. A. R. S.; CID, D.; DELAFUENTE, R. Presence and enterotoxigenicity of F5 and F41 Escherichia coli strains isolated from diarrhoeic small ruminants in Spain. **Small Ruminant Research**, v.44, n. 2, p. 159-161, 2002.

PAAPE, M. J.; GILDRY, A. J.; JAIN, N. V.; MILLER, R. H. **Leukocytic defense mechanisms in the udder** In: BURVENICH, C.; VANDEPUTTE-VAN MESSON, G.; HILL, A. W. New insights into the pathogenesis of mastitis. Belgicim: 1991, p. 95-105.

- PAIVA, F. A.; NEGRÃO, J. A.; BUENO, A. R.; SARAN-NETTO, A.; LIMA, C. G. Efeito do manejo de fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabolitos plasmáticos de bezerros Holandeses. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 739-743, 2006.
- PARASKEVAS, F. **Clinical flow cytometry**. In: LEE, G. R.; FOERSTER, J.; LUKENS, J.; PARASKEVAS, F.; GREER, J. P.; RODGERS, G. M. Wintobe'S clinical hematology. Baltimore: Lippincott Williams&Wilkins, 1999. p. 56-71.
- PEDROSA, K. Y. F.; BARRETO JUNIOR, R. A.; COSTA, E. S.; LEITE, A. I.; PAULA, V. V. Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos na zona noroeste do rio grande do norte. **Revista Caatinga**, v.16, n.1-2, p.17-21, 2003.
- PEREIRA, V. V.; MEDEIROS, L. F. D.; VIEIRA, D. H.; GUERSON, D. F.; OLIVEIRA, S. P.; LOPES, P. R. B. **Temperatura corporal, frequência respiratória e cardíaca em caprinos pretos e brancos de diferentes idades**, 2001. Disponível em :<http://www.abz.org.br/files.php?.file=documentos/R0058_2_628347891>. Acesso em 2 dez. 2010.
- PEETERS, R.; BUYS, N.; ROBIJNS, L.; VANMONTFORT, D.; VAN ISTERDAEL, J. Milk yield and milk composition of Flemish Milksh sheep, Suffolk and Texel ewes and their crossbreds. **Small Ruminant Research**, v. 7, n. 4, p. 279-288, 1992.
- PERINO, L. J. A guide to colostrum management in beef cows and calves. **Veterinary Medicine**, v. 92, n. 1, p. 75-82, 1997.
- PICK, E.; MIZEL, D. Rapid microassays for the measurement of superoxide and hydrogen peroxide production by macrophages in culture using an automatic enzyme immunoassay reader. **Journal Immunology Methods**, v. 46, n. 2, p. 211-226, 1981.
- PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina no estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rrural**, v. 31, n. 3, p. 449-454, 2001.
- PORTER, P. Immunoglobulins in bovine mammary secretions. Quantitatives changes in early lactacion and by the neonatal calf. **Immunology**, v. 23, p. 225-229, 1972.
- PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. 513 p.
- REA, D. E.; TYLER, J. W.; HANCOCK, D. D.; BESSER, T. E.; WILSON, L.; KRYTENBERG, D. S.; SANDERS, S. G. Prediction of calf mortality by use of tests for passive transfer of colostrum immunoglobulin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, n. 12, p 2047-2049, 1996.
- RIBEIRO, S. D. A. **Caprinocultura: Criação racional de caprinos**. São Paulo: Nobel, 1997. 318p.

RODRIGUEZ, C.; CASTRO, N.; CAPOTE, J.; MORALES-DELANUEZ, A.; MORENO-INDIAS, I.; SANGUES-MACIAS, D.; ARGUELLO, A. Effect of colostrum immunoglobulin concentration on immunity in Majorera goat kids. **Journal Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1696-1701, 2009.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. São Paulo: Manole, 2003, 481p.

ROTHKÖTTER, H. J.; PABST, R.; BAILEY, M. Lymphocyte migration in the intestinal mucosa: entry, transit and emigration of lymphoid cells and the influence of antigen. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 72, n. 1-2, p. 157-165, 1999.

SALMON, H. The mammary gland and neonate mucosal immunity. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 72, n. 1-2, p. 143-155, 1999.

SANTANA, A. F.; SILVA, M. H.; ANUNCIAÇÃO, V. M.; GUARDIANI, B. D. P.; RIBEIRO, A. C. BRAZIL, B. V.; AGUIAR, C. S. Transferência da imunidade passiva em cabritos. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, V. VI SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA, 2003, Recife [**Anais**]. Recife: UFRPE, 2003. p. 389-390.

SANTOS, R. B. **Influência do uso da plasmaferese sobre o tempo de recuperação de caprinos doadores de sangue ou plasma**. 2005. 125 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SANTOS, G. T.; GRONGNET, J. F. Transmissão da imunidade passiva colostrar em ruminantes. **Gado Holandês**, v. 54, n. 159, p. 27-35, 1990.

SÁ-ROCHA, V. M. **Aspectos neuroimunes de camundongos mantidos em uma relação social estável**. 2006. 145 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SEBRAE- **Análise da Ovinocaprinocultura no Norte e Nordeste de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2004. 127 p.

SILVA, F. R. **Efeitos de benzodiazepínicos sobre a atividade de neutrófilos de ratos avaliados por citometria de fluxo**. 2003. 179 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

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

SILVA, S. L.; FAGLIARI, J. J.; CESCO, F. T. R. S. Atividade sérica das enzimas AST, ALP e GGT de caprinos das raças Anglo-Nubiana e Saanen criados nos Estados de São Paulo e Paraíba. **Ars Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 22-27, 2004.

SIMÕES, S. V. D.; COSTA, R. G.; SOUZA, P. M.; MEDEIROS, A. N.; VILAR, A. L. T. Imunidade passiva, mortalidade neonatal e desempenho de cabritos em diferentes manejos de colostro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 219-224, 2005.

SMITS, E.; BURVENICH, C.; HEYNEMAN, R. Simultaneous flow cytometric measurement of phagocytotic and oxidative burst activity of polymorphonuclear leukocytes in whole bovine blood. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 56, n. 3-4, p. 259-69, 1997.

SMITH, M., SHERMAN, D.M. **Goat medicine**. Baltimore: Lea&Febiger, 1994. 620p.

SOUZA, B. B.; SOUZA, E. D.; SILVA, R. M. N.; CEZAR, M. F.; SANTOS, J. R. S.; SILVA, G. A. Respostas fisiológicas de caprinos de diferentes grupos genéticos no semi-árido paraibano. **Ciência Agropecuária**, v. 32, n.1, p. 314-320, 2008.

SOUZA, F. N. **Avaliação do estresse oxidativo sob a resposta imune de bovinos infectados pelo vírus da leucose enzoótica bovina**. 2010. 83 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

STOTT, G. H.; MARX, D. B.; MENEFEY, B. E.; NIGHTENGALE, G. T. Colostral immunoglobulin transfer in calves. I. Period of absorption. **Journal Dairy Science**. v. 62, n. 10, p. 1632-1638, 1979.

SZASZ, G. A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl transpeptidase. **Clinical Chemistry**, v. 15, n. 2, p. 124-35, 1969.

TIZARD, I. R. **Imunidade no feto e no recém-nascido**. In: _____. *Imunologia veterinária: uma introdução*. São Paulo: Roca, 2002. p. 233-246.

TRALDI, A. S. **Manejo da reprodução**. In: NUNES, J. F. (Org.). *Produção de caprinos leiteiros: recomendações técnicas*. 1. ed. Maceió: EPEAL/ CODEVASF, 1985. p. 15-30.

VAZ, A. K.; FURTADO, A. C.; MARCA, A.; PATERNO, M. R. Qualidade do colostro bovino e transferência de imunidade aos bezerros recém-nascidos na região de Lages, SC. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 3, n. 2, p. 116-120, 2004.

VIEIRA, M. I. **Criação de cabras**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1986. 308 p.

VIHAN, V. S. Immunoglobulin levels and their effect on neonatal survival in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v. 1, p. 135-144, 1988.

WALKER, P. G.; CONSTABLE, P. D.; MORIN, D. E.; FOREMAN, J. H.; DRACKLEY, J. K. TRURMON, J. A reliable, practical, and economical protocol for inducing diarrhea and severe dehydration in the neonatal calf. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 3, p. 205-213, 1998.

WEISS, D. J. Application of flow cytometric techniques to veterinary clinical hematology. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 31, n. 2, p. 72-82, 2002.

WINNICKA, A; KLUCINSKI, W.; HOSER, G.; SIKORA, J.; KAWIAK, J. Flow cytometry analysis of milk and peripheral blood cells from goats during lactation. **Journal Veterinary Medicine Association**, v. 46, p. 459-464, 1999.

WHIST, S. K.; STORSET, A. K.; LARSEN, H. J. S. Functions of neutrophils in sheep experimentally infected with Ehrlichia phagocyphila. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 86, p.183-193, 2002.

WOOD, C. E. Control of parturition in ruminants. **Journal Reproduction Fertilization**, v. 54, p. 115-126, 1999.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Englewood Clifs: Prentice - Hall, 1984. 718 p.

ZECCONI, A.; BRONZO, V.; PICCININI, R.; SPREAFICO, G.; RUFFO, G. Phagocytic activity of bovine polymorphonuclear neutrophil leucocytes. **Journal of Dairy Research**, v. 61, n. 2, p. 271-279, 1994.

APÊNDICE

Serão apresentados a seguir citogramas referentes a população de PMNs de cabritos recém nascidos submetidos a diferentes manejos de colostro, sendo possível observar o tamanho das células (FSC) por granulosidade ou complexidade interna da célula (SSC). Estas células foram incubadas com bactérias (*S. aureus* e *E.coli*) quando comparadas com as populações de células não estimuladas, mostrando que na fagocitose e na explosão respiratória estimulada ocorreram alterações na morfologia celular e que a técnica de citometria de fluxo é capaz de verificar esse fenômeno.

Figura 1 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos. Em destaque a população de polimorfonucleares- São Paulo- 2008 a 2009

Figura 2 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 3 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com *E.coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 4 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos incubados com *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 5 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos incubados com *E.coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 6 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 7 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com *E.coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 8 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 9 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com *E.coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 10 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56°C por 60 minutos incubados com DCFH-DA. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 11 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com DCFH-DA e *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 12 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra “in natura” incubados com DCFH-DA e *E.coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 13 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos incubados com DCFH-DA e *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 14 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de cabra aquecido a 56° C por 60 minutos incubados com DCFH-DA e *E.coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 15 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com DCFH-DA e *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 16 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram colostro de vaca “in natura” incubados com DCFH-DA e *E. coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 17 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com DCFH-DA e *S. aureus* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009

Figura 18 - Citograma de leucócitos circulantes de cabritos neonatos que ingeriram leite incubados com DCFH-DA e *E. coli* marcado com PI. Em destaque a população de polimorfonucleares - São Paulo - 2008 a 2009