

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária

Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Jorge Tiburcio Barbosa de Lima

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREDIÇÃO DE PARTO E DE
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, LABORATORIAIS E
COMPORTAMENTAIS DE POTROS MANGALARGA MARCHADOR
DURANTE A PRIMEIRA SEMANA DE VIDA**

Belo Horizonte

2023

Jorge Tiburcio Barbosa de Lima

Avaliação de métodos de predição de parto e de características clínicas, laboratoriais e comportamentais de potros Mangalarga Marchador durante a primeira semana de vida

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Benito Soto Blanco

Coorientadora: Raffaella Bertoni
Cavalcanti Teixeira Santos

Coorientadora: Fabíola de Oliveira Paes
Leme

Belo Horizonte

2023

L732a

Lima, Jorge Tiburcio Barbosa de ,1989 -

Avaliação de métodos de predição de parto e de características clínicas, laboratoriais e comportamentais de potros Mangalarga Marchador durante a primeira semana de vida/ Jorge Tiburcio Barbosa de Lima. – 2023.

117 f.il

Orientador: Benito Soto Blanco

Tese (Doutorado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Bibliografias: f. 110 a 114.

1. Equino - Teses - 2. Mangalarga Marchador - Teses – 3. Ciência animal - Teses - I. Blanco, Benito Soto - II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - III. Título.

CDD – 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

JORGE TIBURCIO BARBOSA DE LIMA

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Aprovado em 31 de março de 2023, pela banca constituída pelos membros:

Dr. Benito Soto Blanco - Orientador

Dra. Priscila Fantini

Dra. Renata de Pino Albuquerque Maranhão

Dra. Raffaella Bertoni Cavalcanti Teixeira Santos

Dr. Luiz Carlos Fontes Baptista Filho



Documento assinado eletronicamente por Benito Soto Blanco, Membro, em 31/03/2023, às 13:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Priscila Fantini, Professora do Magistério Superior, em 31/03/2023, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Raffaella Bertoni Cavalcanti Teixeira Santos, Usuário Externo, em 31/03/2023, às 16:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Luiz Carlos Fontes Baptista Filho, Usuário Externo, em 17/04/2023, às 12:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Renata de Pino Albuquerque Maranhão, Chefe de departamento, em 26/04/2023, às 14:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orcao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2191802 e o código CRC C64AA77D.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por permitir realização de mais um sonho e por propiciar tantas coisas boas que vivi durante esse caminho até aqui. O caminho foi longo e difícil, porém muito gratificante e cada momento vivido se tornou único e agregou para me transformar na pessoa que sou hoje. Deus, receba minha eterna gratidão por me permitir essa realização!

Aos meus pais, Romilda e Jorge (*in memoriam*) que durante toda minha vida foram pilares para meu desenvolvimento. Eles me forneceram tudo e mais um pouco para que cada sonho fosse possível ser realizado. Sem medir esforços! Eu não tenho palavras para expressar o quanto sou grato a tudo que fizeram por mim... amo vocês demais!!!

A minha companheira de todos os momentos, Isabella, que foi a pessoa que esteve do meu lado em todas as etapas e suportou comigo todos os desafios e barreiras no percurso. Sou muito feliz em ter você do meu lado, e melhor ainda... sei que posso contar com você para tudo e que sempre estaremos juntos. Não tem como não amar você cada dia mais!

A toda minha família, que mesmo de longe expressam toda torcida e carinho. Gostaria que todos estivessem presentes para que eu pudesse compartilhar a alegria e agradecimento, mas mesmo os que já se foram tenho certeza que estão olhando por mim. Agradecimento especial, as minhas avós (*in memoriam*), Geni e Ester, e meu avô José que sempre me trataram como filho. Aos pais de Isabella, Fátima e Marco Antônio (*in memoriam*), que me acolheram como um filho e torceram em todos os momentos.

A minha orientadora, Raffaella Teixeira, que se não fosse por seu empenho, carinho e confiança que depositou em mim, eu não estaria realizando esse sonho nesse momento. Só tenho agradecimento, carinho e admiração pela pessoa que você é, e por tudo que fez e faz na minha jornada pessoal e profissional. Você é exemplo de pessoa e profissional!

Ao orientador, prof. Benito Soto, que me abriu as portas para inclusão no doutorado em um momento que minhas esperanças já estavam diminuindo. Muito obrigado pela confiança! A minha coorientadora, profa. Fabíola Paes Leme, que desde minha chegada na Escola de Veterinária sempre contribuiu na minha formação e me ajudou sempre. Você contribuiu imensamente na minha formação! As profas. Renata Maranhão e Maristela Palhares, que sempre me deram todo suporte durante a minha jornada e me acolheram desde o primeiro momento, contribuindo na formação profissional e pessoal.

A todos que compõe a Clínica de Equídeos, professores, enfermeiros, residentes, bolsistas e estagiários, que fizeram desse setor um segundo lar e sempre me trataram com todo carinho e

respeito. À Escola de Veterinária, responsável por grande parte da minha construção profissional, e todos os professores que sempre estenderam a mão quando precisei. Vocês me fizeram sentir em casa desde o momento que cheguei nesta instituição. Em especial, ao prof. Roberto Baracat que me deu suporte e sempre me incentivou em atividades acadêmicas, contribuindo para meu crescimento profissional. Muito obrigado por tudo! Ao CNPq, pelo auxílio financeiro durante todo o doutorado

Aos companheiros de pós-graduação, que sempre compartilham as conhecimentos, ajuda e companheirismo. Em especial, a Camilo Osório e Luiz Ernesto, que se prontificaram a ajudar e não mediram esforços para estar presentes nas coletas a campo, mesmo com todas as dificuldades. As noites acordadas não foram em vão! Às hoje residentes, Isabella Eduardo e Anaís Benites, que contribuíram nas análises laboratoriais com toda dedicação e carinho.

Aos Haras Muralha de Pedra, pelos fornecimentos dos animais e toda estrutura para coletas de dados. Com destaque para os funcionários, Sr. Realindo, Wellington (Biscoito), Gabriel e Ney que forneceram toda ajuda durante o período de coletas.

A todos que de alguma forma contribuíram não só no desenvolvimento deste trabalho, mas na minha formação como profissional e pessoa!

“... Que todo adulto trás dentro de si
Um sonho de criança” (Alma de menino, Os Nonatos)

Resumo

Durante o período neonatal diversas adaptações ao meio externo são necessárias. Nessa idade, as avaliações clínicas rotineiras têm como objetivo acompanhar o desenvolvimento orgânico desses animais, como também identificar anormalidades clínicas. O objetivo desse estudo foi avaliar métodos de predição de parto e características clínicas e comportamentais de neonatos da raça Mangalarga Marchador (MM), bem como individualizar parâmetros de avaliação que servirão de referência para a raça. Para avaliar proximidade do parto em éguas MM, foram analisados o pH e concentração de Cálcio (Ca^{2+}), Magnésio (Mg^{2+}), Cloreto (Cl^-), Sódio (Na^+) e Potássio (K^+) da secreção da glândula mamária. O pH, mensurado por fita reagente e pHmetro, e os eletrólitos Ca^{2+} , Mg^{2+} e Cl^- alteraram significativamente nos últimos 10 dias antes do parto ($p < 0,05$). Com menos de 24 horas para parição, o pH diminuiu significativamente para $6,67 \pm 0,42$ (pHmetro) e $6,23 \pm 0,53$ (fitas reagentes) e o Ca^{2+} ($12,6 \pm 5,8 \text{ mmol/L}$) e Mg^{2+} ($10,93 \pm 3,66 \text{ mmol/L}$) aumentaram ($p < 0,0001$). O Cloreto diminuiu significativamente 8 dias antes do parto ($p < 0,0001$), porém se manteve estável até a parição. A identificação dessas características auxilia na determinação da proximidade do parto. Ao nascimento, os potros saudáveis apresentaram peso médio de $32,24 \pm 3,85 \text{ Kg}$ e peso da placenta correspondendo a $10,49 \pm 1,03\%$ em relação ao peso do potro. Houve correlação positiva entre peso do potro/placenta ($r = 0,56$, $p = 0,031$). Na avaliação comportamental, os recém-nascidos apresentaram o tempo médio (minutos) para assumir postura esternal de $10,76 \pm 2,77$, estação em $26,07 \pm 7,96$, primeira mamada em $47,23 \pm 10,47$ e eliminação do mecônio com $59,0 \pm 12,97$; todos os tempos encontraram-se dentro do intervalo de referência para a espécie. Em relação aos parâmetros físicos durante a primeira semana de vida, identificou-se ganho de peso significativo, com média de $1,41 \text{ Kg/dia}$, temperatura corporal estável a partir da avaliação com 12 horas de vida e menor média de frequência cardíaca e respiratória com uma semana de vida ($p < 0,05$). Na avaliação hematológica e bioquímica no mesmo período, diversos parâmetros apresentaram mudanças significativas ao longo das análises. As principais alterações hematológicas ocorreram nos parâmetros: contagem de eritrócitos, hematócrito, plaquetas, VCM, RDW e leucócitos ($p < 0,05$). Na avaliação bioquímica sérica a ureia nitrogenada, creatinina, PPT, globulinas, bilirrubinas, GGT, AST, glicemia, lactato, fibrinogênio e os eletrólitos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , Na^+ e K^+) apresentaram alterações na primeira semana de vida ($p < 0,05$). As mudanças observadas refletem adaptações à vida extrauterina, bem como o desenvolvimento de órgãos e sistemas. O colostro ingerido pelos recém-nascidos apresentou boa qualidade ($\bar{x} 26,8 \pm 4,4\%$ graus BRIX) e os animais apresentaram média sérica de IgG de $3.589,25 \pm 878,48 \text{ mg/dL}$ com 24 horas de vida. Não houve correlação do grau de BRIX do colostro com a concentração sérica de IgG ($p > 0,05$). A concentração de IgG, avaliada por imunodifusão radial (“teste ouro”), apresentou correlação positiva de moderada a forte com a concentração de proteínas plasmáticas totais, analisada por analisador bioquímico ($r = 0,69$, $p < 0,001$) e refratometria ($r = 0,82$, $p < 0,001$), e correlação moderada com globulinas ($r = 0,66$, $p < 0,001$). A adequada transferência de imunidade apresentada é reflexo da ingestão e absorção adequada de colostro de boa qualidade. A correlação apresentada entre IgG e PPT torna esse método alternativa na triagem de animais.

Palavras-chave: Potro. Afecções. Exame. Recém-nascido.

Abstract

During the neonatal period, several adaptations to the external environment are necessary. At this age, routine clinical evaluations are performed to monitor the organic development of foals and their clinical abnormalities. The aim of the present study was to evaluate clinical and behavioral characteristics of Mangalarga Marchador (MM) neonates, as well as to individualize clinical parameters that will serve as a reference for the breed. To assess the proximity of parturition in MM mares, the pH and concentration of Calcium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}), Chloride (Cl^-), Sodium (Na^+) and Potassium (K^+) of the mammary gland secretion were analyzed. The pH, measured by reagent strip and pH meter, and the electrolytes Ca^{2+} , Mg^{2+} and Cl^- changed significantly in the last 10 days before parturition ($p < 0.05$). Within 24 hours to parturition, the pH decreased significantly to 6.67 ± 0.42 (pH meter) and 6.23 ± 0.53 (reagent strips) and Ca^{2+} ($12.6 \pm 5.8 \text{ mmol/L}$) and Mg^{2+} ($10.93 \pm 3.66 \text{ mmol/L}$) increased ($p < 0.0001$). Chloride significantly decreased 8 days before parturition ($p < 0.0001$) but remained stable until foaling. Those findings are important to predict parturition in the breed. At birth, healthy foals had an average weight of $32.24 \pm 3.85 \text{ kg}$ and the placental weight corresponded to $10.49 \pm 1.03\%$ of the foal's weight. There was a positive correlation between foal weight/placenta weight ($r = 0.56$, $p = 0.031$). When behavior was assessed, the mean time for newborns to assumed sternal position was 10.76 ± 2.77 minutes, to stand was 26.07 ± 7.96 minutes, the first feeding occurred at 47.23 ± 10.47 minutes and elimination of the meconium occurred with 59.0 ± 12.97 minutes. All behaviors were within the reference interval for the species. A significant weight gain was identified during the first week of life (average of 1.41 kg/day). The body temperature stabilized when the foals were 12-hours old. Heart and respiratory rate reached the lowest mean values at one week of age ($p < 0.05$). When hematological and biochemical parameters were evaluated during the first week of life, significant changes were observed on erythrocyte count, hematocrit, platelets, VCM, RDW, leukocytes, nitrogenous urea, creatinine, PPT, globulins, bilirubin, GGT, AST, glycemia, lactate, fibrinogen and electrolytes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , Na^+ and K^+) ($p < 0.05$). The observed changes reflect adaptations to extrauterine life, as well as the development of different organs and systems. The colostrum ingested by the foals had a good quality ($\bar{x} 26.8 \pm 4.4\%$ BRIX degrees) and the mean serum IgG at 24 hours of life was $3,589.25 \pm 878.48 \text{ mg/dL}$. There was no correlation between BRIX analysis in the colostrum and the serum IgG concentration in the foal's serum ($p > 0.05$). The total serum IgG, assessed by radial immunodiffusion ("gold test") had a moderate to strong positive correlation with the concentration of total plasmatic proteins, analyzed by biochemical analyzer ($r = 0.69$, $p < 0.001$), refractometry ($r = 0.82$, $p < 0.001$) and globulins ($r = 0.66$, $p < 0.001$). The adequate transfer of immunity observed reflects the ingestion and adequate absorption of good quality colostrum. PPT is an alternative to evaluate adequate transfer of immunity, based on its strong correlation with IgG values.

Keywords: Foal. Disorders. Examination. Newborn.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Concentrações hipotéticas de imunoglobulinas G séricas em potros, incluindo IgG colostrar (círculo), produção de IgG endógena (quadrados) e a soma de ambos (triângulos)	29
Quadro 1	Tempo médio para características comportamentais dos potros recém-nascidos	32
Quadro 2	Parâmetros normais de referência de frequência cardíaca, respiratória e temperatura para potros recém-nascidos	32
Quadro 3	Parâmetros utilizados para definição de SIRS baseado na faixa etária dos animais	36
Quadro 4	Escore de sepse para neonatos equinos	37
Figura 2	pH mammary gland secretion obtained by pH meter and pH paper strip during the last 10 days prior to parturition in Mangalarga Marchador mares	53
Figura 3	Bland-Altman graphic for pH measurements obtained by pH meter and pH paper strip in the mammary gland secretion of Mangalarga Marchador mares in the last 10 days prior to parturition	53
Figura 4	Magnesium, Calcium and Chloride concentrations in the mammary gland secretion of Mangalarga Marchador mares within 10 days prior to foaling	54
Figura 5	Parâmetros físicos dos animais considerados saudáveis durante a primeira semana de vida. Os gráficos representam os valores médios \pm EP (erro padrão) para variáveis peso (Kg) (superior esquerdo), temperatura ($^{\circ}$ C) (superior direito), frequência respiratória (mpm) (inferior esquerdo) e frequência cardíaca (bpm) durante a primeira semana de vida de neonatos Mangalarga Marchador	68
Figura 6	Gráfico em diagrama de caixa estratificado (esquerda) para representação da variação do grau de BRIX (%) nas amostras de colostro de coloração amarela e branco provenientes de éguas no pós-parto imediato	105
Figura 7	Gráfico de dispersão com os valores da correlação de Spearman (R) e o seu respectivo valor p (p) para concentração sérica de IgG (mg/dL) em relação a Globulinas (g/dL) (esquerda) e Proteínas plasmática total (g/dL) (direita) em neonatos Mangalarga Marchador	106
Figura 8	Gráfico de dispersão com os valores da correlação de Spearman (R) e o seu respectivo valor p (p) para concentração sérica de IgG (mg/dL) em relação a PPT utilizando o refratômetro óptico (g/dL) (esquerda) e correlação da concentração de PPT (g/dL) utilizando o refratômetro óptico e analisador bioquímico (direita) em neonatos Mangalarga Marchador	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Means and standard deviation (SD) for pH and electrolytes during the last 10 days prior to parturition in the mammary gland secretion of Mangalarga Marchador mares _____	52
Tabela 2	Sensitivity, Specificity, Positive Predict Value (PPV), Negative Predict Value (NPV) and Accuracy for pH, Magnesium (Mg^{2+}) and Calcium (Ca^{2+}) in the mammary gland secretion of MM mares 24 hours before parturition, considering different threshold values _____	55
Tabela 3	Tempo médio (minutos) e desvio padrão ($\bar{x} \pm SD$) para características comportamentais de neonatos Mangalarga Marchador monitorados após o nascimento _____	67
Tabela 4	Concentração média dos parâmetros hematológicos (média \pm EP) e diferença entre coletas para potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida. Os tempos descritos representam o tempo de coletas na primeira semana de vida _____	84
Tabela 5	Concentração média de metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas (média \pm EP) e diferença entre coletas para potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida. Os tempos descritos representam o tempo de coletas na primeira semana de vida _____	86
Tabela 6	Concentração média de eletrólitos séricos (média \pm EP) e diferença entre coletas para potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida. Os tempos descritos representam o tempo de coletas na primeira semana de vida _____	87
Tabela 7	Concentração média de proteínas séricas (média \pm erro padrão) e diferença entre coletas para proteínas plasmática total, globulina e albumina obtidas utilizando analisador bioquímico no primeiro dia de vida, e imunoglobulinas G obtidas por meio de imunodifusão radial com 24 horas de vida, em potros Mangalarga Marchador. Os tempos descritos representam os tempos de coletas _____	106
Tabela 8	Intervalo de referência para parâmetros hematológicos em potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida _____	116
Tabela 9	Intervalo de referência para metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas em potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida _____	117
Tabela 10	Intervalo de referência para eletrólitos séricos em potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida _____	118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus celsius
%	Percentual
µL	Microlitros
®	Marca registrada
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
ABCCMM	Associação brasileira de criadores de cavalos Mangalarga Marchador
ALP	Fosfatase alcalina
ARS	Animal reproductions systems
AST	Aspartato aminotransferase
ATIP	Adequada transferência de imunidade passiva
bpm	Batimentos por minuto
Ca ²⁺	Cálcio
CaCO ₃	Carbonato de Cálcio
cel/µL	Células por microlitros
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CHCM	Concentração corpuscular média de hemoglobina
Cl ⁻	Cloreto
CpG	Capacidade imunoestimulador
CV	Coefficiente de variação
EDTA	Ácido etilodiamino tetra-acético
FcRn	Receptor Fc neonatal
fL	Fentolitro
g/dL	Gramas por decilitros
GGT	Gama glutamiltransferase
Hb	Hemoglobina
Hct	Hematócrito
IDR	Imunodifusão radial
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
K ⁺	Potássio
KCl	Cloreto de potássio
Kg	Kilogramas
mEq/L	Miliequivalentes por litros
Mg ²⁺	Magnésio
mg/dL	Miligramas por decilitro
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
mL	Mililitros
MM	Mangalarga Marchador
mm	Milímetros
mmol/L	Milomol por litro
mpm	Movimentos por minutos
Na ⁺	Sódio
NPV	Negative predict value

PAMP	Padrões moleculares relacionados ao patógeno
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Parte por milhão
PPT	Proteínas plasmática total
PPV	Positive predict value
PSI	Puro sangue inglês
PTH	Parathyroid hormone
RDW	Amplitude de distribuição dos eritrócitos
rpm	Rotação por minuto
SAA	Amiloide sérica A
SDH	Sorbitol desidrogenase
SD	Desvio padrão
SIRS	Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TB	Thoroughbred
TPC	Tempo de perfusão capilar
TIP	Transferência de imunidade passiva
TNF	Fator de necrose tumoral
TRL	Receptores Toll-Like
U/L	Unidades por litro
VCM	Volume corpuscular médio
\bar{x}	Média

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivo específico	15
CAPÍTULO I	
Características imunológicas e monitoramento clínico dos neonatos equinos	17
1. INTRODUÇÃO	18
2. MORFOLOGIA PLACENTÁRIA	19
3. SISTEMA IMUNE DO FETO EQUINO	22
4. SISTEMA IMUNOLÓGICO DO RECÉM-NASCIDO	23
4.1 Sistema imunológico inato	23
4.2 Sistema imunológico adaptativo	25
5. TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE	27
6. FATORES DE RISCO PARA DESENVOLVIMENTO DE INFECÇÕES LOCAIS OU SEPSE	30
7. MONITORAMENTO CLÍNICO	31
7.1 Parâmetros de avaliação para recém-nascidos	32
7.2 Diagnóstico de SIRS e sepse	35
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
9. REFERÊNCIAS	39
CAPÍTULO II	
Mammary gland secretion ph and electrolytes in prepartum Mangalarga Marchador mares	47
1. INTRODUCTION	48
2. MATERIAL AND METHODS	49
3. RESULTS	51
4. DISCUSSION	55
5. CONCLUSION	58
6. ACKNOWLEDGMENT	58
7. REFERENCES	58
CAPÍTULO III	
Caracterização de parâmetros clínicos, comportamentais e viabilidade neonatal para potros mangalarga marchador na primeira semana de vida	62
1. INTRODUÇÃO	63
2. MATERIAL E MÉTODOS	64
2.1 Seleção dos animais	64
2.2 Análise estatística	65
3. RESULTADOS	66
4. DISCUSSÃO	68
5. CONCLUSÃO	73
6. REFERÊNCIAS	73

CAPÍTULO IV

Parâmetros hematológicos e bioquímicos de neonatos Mangalarga Marchador durante a primeira semana de vida _____	78
1. INTRODUÇÃO _____	80
2. MATERIAL E MÉTODOS _____	81
2.1 Seleção dos animais _____	81
2.2 Coletas de amostras _____	81
2.3 Análises hematológicas e bioquímicas _____	82
2.4 Análise estatística _____	82
3. RESULTADOS _____	83
3.1 Hematologia _____	83
3.2 Metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas _____	85
3.2 Eletrólitos séricos _____	86
4. DISCUSSÃO _____	87
5. CONCLUSÃO _____	92
6. REFERÊNCIAS _____	93

CAPÍTULO V

Avaliação da transferência de imunidade passiva e concentração de proteínas séricas em neonatos Mangalarga Marchador _____	99
1. INTRODUÇÃO _____	100
2. MATERIAL E MÉTODOS _____	102
2.1 Seleção dos animais _____	102
2.2 Coletas das amostras e análises _____	102
2.3 Análise estatística _____	104
3. RESULTADOS _____	104
4. DISCUSSÃO _____	107
5. CONCLUSÃO _____	111
6. REFERÊNCIAS _____	111

APÊNDICE

Apêndice A- Intervalo de referência para valores hematológicos _____	116
Apêndice B- Intervalo de referência para metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas _____	117
Apêndice C- Intervalo de referência para eletrólitos séricos _____	118

1. INTRODUÇÃO

Na espécie equina, o período neonatal compreende o período de adaptação a vida extrauterina (Millar, 2013) com duração entre 15 e 30 dias vida dos potros (Weber et al., 2015; Wong e Wilkins, 2015). Neste período, esses animais estão sujeitos a afecções de diversas origens. Dentre as principais causas de óbito estão os problemas de origem infecciosa, com maior destaque para a sepse. Como a placenta equina não permite passagem de imunoglobulinas, os potros nascem agamaglobulinêmicos. Dessa forma, dependem da ingestão e absorção de colostro para que ocorra adequada transferência de imunidade passiva (ATIP) e proteção imunológica nas primeiras semanas de vida (Mariella et al., 2017; Jeffcott, 1974). Embora um dos principais fatores de risco para desenvolvimento de processos infecciosos locais e/ou sepse seja falha na transferência de imunidade passiva, outros fatores relacionados a égua e/ou potros podem estar envolvidos. Diversas afecções estão associadas ao tempo de gestação da égua, histórico de alterações no período gestacional, complicações durante o parto, bem como o comportamento e as características do potro após o nascimento (Knottenbelt et al., 2004).

O tempo normal de gestação da égua pode variar entre 320 a 360 dias (Knottenbelt et al., 2004). Neste intervalo, a égua deve ser mantida em ambiente seguro e ser submetida a protocolos sanitários adequados (vacinação, vermifugação e controle de ectoparasitas), auxiliando assim na produção de colostro de boa qualidade. O parto é um evento rápido na espécie equina, que na maioria das vezes ocorre sem intercorrências (Frazer et al., 1999), porém, o acompanhamento gestacional com avaliação de proximidade do parto permite seu monitoramento e intervenções imediatas quando necessário. O segundo estágio do parto, relacionado ao nascimento do potro, não deve ultrapassar 30 minutos (Lynch et al., 2007). Após o nascimento, o potro deve estar em estação e mamando em até 2 horas. Partos prolongados e potros pouco ativos após o nascimento são fatores de risco para o desenvolvimento de enfermidades neonatais (Knottenbelt et al., 2004).

A lactação da égua se inicia pelo colostro, que contém secreções e proteínas da glândula mamária acumuladas nas últimas semanas da gestação. O colostro é rico em imunoglobulina (Ig) G e A e contém baixas concentrações de IgM e IgE. A IgG é o anticorpo mais abundante no colostro, compreendendo cerca de 65 a 90% do conteúdo total. Sua concentração depende de fatores intrínsecos à égua, como idade e genética, e extrínsecos como o manejo sanitário (Rumbaugh e Adams, 1979). A absorção de proteínas é seletiva nos potros, visto que a IgG e IgM são preferencialmente absorvidas, enquanto IgA permanece no intestino e tem grande importância para proteção local de mucosa (Tizard, 2014).

Nos neonatos, a concentração sérica de imunoglobulinas para que haja proteção contra patógenos depende de fatores relacionados ao manejo, indivíduo e microrganismos envolvidos (McGuire et al., 1975). De forma geral, concentrações séricas superiores a 800 mg/dL estão correlacionadas com adequada transferência de imunidade passiva, e concentrações entre 400-800 mg/dL e menores que 400 mg/dL são consideradas, respectivamente, falha parcial e completa de transferência de imunidade (Tyler-McGowan et al., 1997; Koterba et al., 1984). Entretanto, Baldwin et al. (1991) identificaram que a concentração sérica de IgG tradicionalmente descrita, não estava relacionada com a prevalência, gravidade da doença e/ou à taxa de sobrevivência em potros da raça Standardbred, concluindo que valores de referência podem variar de acordo com a raça.

A raça Mangalarga Marchador (MM) possui mais de 600.000 animais registrados em sua associação e compreende a maior parte do rebanho equino do estado de Minas Gerais. Além da marcha, considerada uma grande comodidade ao cavaleiro, apresenta outras características vantajosas, como a rusticidade (ABCCMM). Há uma percepção na rotina clínica, que muitos parâmetros de avaliação comumente utilizados na neonatologia equina não se aplicam de forma fidedigna aos neonatos da raça MM. Dentre esses parâmetros incluem-se dados relacionados a égua periparturiente, comportamento e parâmetros do exame clínico neonatal.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar parâmetros clínicos e comportamentais de potros neonatos da raça Mangalarga Marchador, do nascimento ao final da primeira semana de vida, e avaliar os métodos de predição do momento do parto pela análise da secreção da glândula mamária.

2.2 Objetivos específicos

- Revisar, com base na literatura publicada, características imunológicas e parâmetros clínicos utilizados na avaliação neonatal equina.
- Determinar concentração eletrolítica e pH de secreção da glândula mamária de éguas prenhas Mangalarga Marchador, para predizer a proximidade do parto.
- Determinar valores de referência para perfil hematológico e bioquímico de potros Mangalarga Marchador do nascimento ao final da primeira semana de vida.
- Caracterizar parâmetros do exame físico, comportamental e viabilidade neonatal de potros Mangalarga Marchador, do nascimento ao final da primeira semana de vida.

- Avaliar a qualidade do colostro ingerido por recém-nascidos Mangalarga Marchador e sua correlação com a concentração sérica de imunoglobulinas G;
- Utilizar a imunodifusão radial para avaliação da transferência de imunidade passiva e determinar sua correlação com métodos alternativos para prever a transferência de imunidade passiva na raça Mangalarga Marchador.

CAPÍTULO I

CARACTERÍSTICAS IMUNOLÓGICAS, DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DE SIRS E SEPSE EM NEONATOS EQUINOS

Resumo

Os neonatos equinos são mais susceptíveis a infecções quando comparados com outras faixas etárias. Estes animais, desde o nascimento, são exigidos para desempenhar a expansão do sistema imunológico, ao mesmo tempo que geram respostas e reconhecem antígenos ambientais. Neste capítulo, realizou-se uma revisão acerca do desenvolvimento e características imunológicas perinatal, e técnicas de diagnóstico e recochecimento precoce de processos infecciosos locais ou sistêmicos. A placenta equina tem como principal característica a eficiência no transporte de nutrientes para o feto, porém imunoglobulinas maternas não conseguem atravessar a barreira placentária. Apesar do feto equino ser capaz de realizar linfopoiese, sua limitada resposta imunológica faz com que esses animais apresentem baixos níveis de imunoglobulinas ao nascimento. Após o parto, os neonatos exibem reduzida resposta imunológica e necessitam da transferência de imunidade materna através do colostro. O período neonatal constitui a fase de maior susceptibilidade a infecções. Nesta fase, diversas adaptações morfológicas e fisiológicas acontecem, portanto o conhecimento dessas mudanças é necessário para que sejam realizados avaliações e diagnósticos mais precisos. A identificação de animais com alterações clínicas exige conhecimento do comportamento normal para a faixa etária, além dos parâmetros clínicos e adequada interpretação de exames complementares. Embora diversas afecções acometam os animais neonatos, a sepsé é a principal causa de mortalidade no período neonatal. Com sinais clínicos poucos específicos e menos pronunciados em estágios iniciais, o diagnóstico precoce se torna um desafio. Para auxiliar na identificação desses animais utiliza-se o escore de sepsé. Esse sistema pontua dados do exame clínico para determinar se o clínico deve ou não suspeitar de sepsé no paciente neonatal. Contudo, como os principais desencadeadores da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) no período neonatal são processos infecciosos, a detecção de potros em SIRS pode auxiliar no diagnóstico precoce da sepsé. Assim como na sepsé, o reconhecimento de animais em SIRS é realizado por meio de escore. A identificação precoce de animais com sepsé permite a realização de tratamento imediato e melhor prognóstico.

Palavras-chave: Potros. Infecção. Sepsé. SIRS. Imunidade.

Abstract

Equine neonates are more susceptible to infections when compared to other age groups. These animals, from birth, are required to perform the expansion of the immune system, while generating responses and recognizing environmental antigens. In this chapter, a review about

perinatal immunological development and characteristics, diagnostic techniques and early recognition of local or systemic infectious processes was performed. The main characteristic of the equine placenta is its efficient transport of nutrients to the fetus, but maternal immunoglobulins cannot cross the placental barrier. The equine fetus can perform lymphopoiesis, but its limited immune response is responsible for low levels of immunoglobulins at birth. After delivery, neonates exhibit reduced immune response and require transfer of maternal immunity through colostrum. The neonatal period is characterized by a high susceptibility to infections. During this period several morphological and physiological adaptations take place and their recognition is necessary for more accurate clinical evaluations and diagnoses. The identification of animals with clinical alterations requires knowledge of normal behavior for the age group, in addition to clinical parameters and adequate interpretation of complementary exams. Several conditions can affect newborn foal, but sepsis is the main cause of mortality in the neonatal period. Early diagnosis of sepsis can be a challenge since initial clinical signs are subtle and can be missed. The sepsis score was created as an adjunct method to help clinicians determine whether sepsis should be suspected in the neonatal patient. The main triggers of Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in the neonatal period are infectious processes, therefore detection of foals in SIRS can also help in the early diagnosis of sepsis. The recognition of animals in SIRS is also performed using a specific score developed for neonatal foal. The early identification of animals with sepsis allows immediate treatment and a better prognosis.

Keywords: Foals. Infection. Sepsis. SIRS. Immunity.

1. INTRODUÇÃO

Embora a placentação epiteliocorial dos equinos seja uma das mais eficientes em transporte de nutrientes, as imunoglobulinas maternas não conseguem atravessar a barreira e conferir imunidade pré-natal aos potros (Borghesi et al., 2014). Com isso, os potros ao nascimento são imunologicamente imaturos e dependem da imunidade passiva transmitida pelo colostro para suporte de defesa (Tizard, 2013c; Jeffcott, 1974a).

Após o nascimento, o recém-nascido é imediatamente exposto a uma série de microrganismos ambientais, culminando em flora complexa em diversas superfícies do corpo. Nos primeiros momentos de vida extrauterina os mamíferos são exigidos a desempenhar expansão do seu sistema imunológico, enquanto geram resposta a patógenos e antígenos ambientais. Para sobreviver, o recém-nascido precisa ser capaz de controlar possíveis invasores patogênicos. Entretanto, o sistema imunológico não está totalmente desenvolvido ao nascimento e algumas semanas ou meses são necessários para funcionar em níveis semelhantes a animais adultos. Portanto, os neonatos são vulneráveis a infecções nas primeiras semanas de vida (Tizard, 2013c).

Diversas condições infecciosas e não-infecciosas são responsáveis por óbito de potros no período neonatal. Dentre elas, destaca-se a sepse como a principal causa de mortalidade nos primeiros sete dias de vida (Cohen, 1994). Os principais fatores de risco são infecções maternas, complicações no parto, falha na transferência de imunidade passiva e práticas de manejo sanitário inadequadas. As infecções pós-parto normalmente ocorrem em conjunto com falhas na transferência de imunidade (Paradis, 1994; Baldwin et al., 1990).

O reconhecimento precoce de infecções locais e/ou sepse é imprescindível para início da terapia, determinação de prognósticos e obtenção de melhores resultados. Com taxa de mortalidade de animais sépticos podendo chegar a 50%, o reconhecimento do quadro permite discussão mais objetiva em relação a tratamento e prognóstico (Hurcombe et al., 2008). Devido as características do desenvolvimento dos sinais clínicos, quadros infecciosos iniciais são menos específicos e o foco de infecção pode não ser identificado. Com a progressão do quadro, os sinais se tornam mais evidentes, porém o prognóstico tende a ser reservado ou desfavorável (Brewer e Koterba, 1988). O prognóstico desfavorável, em partes, é atribuído aos efeitos sistêmicos da inflamação em resposta ao insulto infeccioso (sepse), que progride para choque séptico e morte (Bone et al., 1992). Com o intuito de agilizar diagnósticos e tratamentos, foram desenvolvidos os escores de SIRS (Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica) e sepse. Esses sistemas usam critérios do exame clínico, tornando sua identificação mais objetiva (Wong et al., 2018).

O conhecimento das características de desenvolvimento dos sistemas orgânicos e imunológicos dos neonatos equinos, propicia otimização do manejo preventivo e terapêutico desses animais, bem como identificação de alterações que podem surgir em condições de doenças (Milla, 2013; Jeffcott, 1974a). Dessa forma, o objetivo desse capítulo é revisar informações acerca das características e desenvolvimento imunológico perinatal, bem como caracterizar alterações que possam ser oriundas de processos infecciosos locais ou sepse.

2. MORFOFISIOLOGIA PLACENTÁRIA

Durante a gestação há o desenvolvimento de um complexo sistema de membranas nutricionais que englobam o feto e formam a placenta (Leiser e Kaufmann, 1994). Com o desenvolvimento fetal, a placenta torna-se um órgão essencial e especializado na troca materno-fetal, graças a uma rede complexa e extensa de capilares com estreita relação entre os vasos fetais e maternos (Brolio et al., 2010).

A placenta é um órgão temporário, que permite transferência restrita de metabólitos e nutrientes materno-fetal (Steven, 1975). Ao longo da história recebeu diversas definições e propriedades, variando desde função espiritual até proteção contra doenças. Há descrições pelos povos egípcios e gregos, porém a placenta equina foi relatada pela primeira vez no ano de 1598. A partir daí, foi alvo de pesquisas ao longo da história, com descobertas no decorrer dos séculos. A definição mais abrangente foi publicada por Mossman (1991), descrita como “*uma aposição de tecido parental e fetal para fins de troca fisiológica*”. Outra definição proposta com o objetivo de englobar os aspectos morfológico e funcionais descreve “*um arranjo de um ou mais epitélios de transporte entre circulação fetal e materna*” (Morresey, 2011).

Sua classificação baseia-se no tipo e número de membranas envolvidas, formato, aspectos da interdigitação na superfície materno-fetal, tipo e número de camadas e arranjo dos capilares (Brolio et al., 2010). Na espécie equina é classificada em epitéliocorial, uma vez que o epitélio uterino está em contato com a camada mais externa do córion. Com a distribuição das vilosidades dispersas uniformemente no tecido materno, formando pequenos agrupamentos (microcotilédones), recebe a classificação de difusa (Allen et al., 2002). Como não há perda do tecido materno durante o parto é denominada adecídua (Ginther, 1992). Dessa forma, é classificada como epitéliocoreal, difusa, microcotiledonária e adecídua (Abd-Elnaeim et al., 2006).

São atribuídas quatro funções essenciais, sendo elas, a síntese e transferência de nutrientes, eliminação de resíduos, barreira imunológica e atuação como órgão endócrino. O funcionamento e adequação de todos esses aspectos são vitais no desenvolvimento e viabilidade fetal, sendo suas funções dependentes da saúde materna e competência reprodutiva (Morresey, 2011). Com a progressão da gestação, há mudanças estruturais visando suprir as demandas nutricionais e metabólicas (AbdElnseim et al., 2003; Gerstenherg et al., 1999). Um dos pré-requisitos para o sucesso da gestação nas éguas é a ligação de uma placenta saudável no endométrio inteiramente funcional (Allen, 2004).

A placenta epitéliocorial difusa dos equinos é tida como uma das mais eficientes, em comparação com outras espécies, no transporte de nutrientes. À medida que o feto aumenta de tamanho, as demandas nutricionais aumentam exponencialmente. Sendo o único canal de transporte, a placenta continua a crescer em massa, tamanho e área de contato materno-fetal com o objetivo de atender as necessidades do feto (Morresey, 2011).

Todas as substâncias necessárias para o crescimento e metabolismo fetal estão disponíveis a partir da circulação materna. A função de barreira seletiva e via de transporte da membrana

placentária é mediada pelo número de membranas a serem atravessadas. Na placenta equina, para uma molécula do sangue materno chegar ao sangue fetal, é necessário transporte através de seis camadas de tecido, sendo elas: endotélio materno, tecido conjuntivo, epitélio materno, trofoblasto, tecido conjuntivo fetal e endotélio fetal (Leiser e Kaufmann, 1994). Nessas camadas, os endotélios não são fenestrados e todos os epitélio são selados por junções estreitas. Os mecanismos pelos quais os nutrientes atravessaram a placenta e são disponibilizados para o feto, são classificados em *difusão simples*, *transporte de membrana específico* e *pinocitose* (Wooding e Fowden, 2006).

A placenta equina é impermeável a passagem de proteínas pelos métodos comuns de transferência de nutrientes. O número de camadas e células trofoblásticas justapostas inibem a passagem de globulinas e outros fatores imunológicos até o feto. Dessa forma, a barreira criada pelas seis camadas impede a transferência de proteínas maternas. Portanto, nesses animais torna-se necessário a absorção via colostro para transferência de anticorpos maternos (Borghesi et al., 2014).

Desde 1924, foi sugerido a ausência de transmissão placentária de imunoglobulinas nos equinos, atribuído a não identificação de corpos imunológicos no soro de animais recém-nascidos (Jeffcott, 1972). Outras observações identificaram concentrações altas de títulos de anticorpos no colostro da égua, com aumento significativo no soro do potro após a ingestão. A partir desses dados, foram descritos a falta de imunidade pré-natal no potro contra toxinas específicas, porém, altos títulos de antitoxinas no colostro e soro do potro após ingestão desse colostro (Bardelli, 1930; Mason et al., 1930). Com evidência em várias espécies acerca da impermeabilidade da placenta a anticorpos, foi sugerido uma correlação entre a morfologia e permeabilidade, de forma que todas as camadas de tecido entre a circulação fetal e materna constituem uma barreira na passagem de anticorpos. Posteriormente, observou-se que não necessariamente todas as camadas estão envolvidas na ausência de transferência (Björkman, 1970). Com base na avaliação de placentas humanas, foi proposto o envolvimento de receptores e sítios específicos para transmissão de anticorpos até o feto (Mathias et al., 1995).

Devido ao alto peso molecular das imunoglobulinas, seu transporte através da placenta é impedido, diferindo dos demais nutrientes. O receptor envolvido no transporte de IgG é o receptor Fc neonatal (FcRn), uma proteína relacionada ao MHC (complexo principal de histocompatibilidade) classe I. Ele é responsável pelo transporte de IgG na mucosa intestinal, placenta e glândula mamária, permitindo o equilíbrio entre IgG e albumina no corpo. Especula-se que o método de transferência de IgG pelo receptor, esteja correlacionado com comprimento

da cadeia sequencial do FcRn. Foi observado nos mamíferos com cadeias sequenciais mais curtas, dentre eles os equinos, que a transferência de IgG ocorre apenas no período pós-natal pela ingestão do colostro (Ma et al., 2018).

Embora as características morfológicas placentárias impeçam passagem de imunoglobulinas para o feto, desde sua formação a placenta é responsável pela barreira de proteção. Além da proteção física formada pelo número de camadas, durante a gestação há regulação negativa dos linfócitos na circulação materna tornando o conceito menos susceptível a respostas imunes maternas (Borghesi et al., 2014). Este processo é necessário para alcançar equilíbrio adequado entre rejeição e tolerância local (Wooding e Burton, 2008). Embora não haja transferência imunológica durante a gestação, diversos mecanismos de defesa inatos e adaptativos estão presentes desde a vida fetal (Tizard, 2013).

3. SISTEMA IMUNE DO FETO EQUINO

Durante a vida fetal, o fígado é o órgão de hematopoese primário e suporta a expansão de células B, até que a medula óssea assume o papel (Butler et al., 2011; Yokota et al., 2006; Timens e Kamps, 1997). Em relação a resposta imunológica fetal, os equinos são modelos ideais pela característica morfológica da placenta não permitir passagem de imunoglobulinas. Com isso, não há interferência da imunidade materna na avaliação da resposta imunológica do feto (Perryman et al., 1980).

No feto equino, a linfopoiese B pode ser detectada a nível molecular em torno de 90-120 dias de gestação. Porém, há possibilidade de detecção ainda mais precoce no saco vitelino. Os linfócitos podem ser observados em diversos órgãos do feto no decorrer da gestação, como por exemplo, no timo por volta de 60-80 dias pós-concepção, linfonodos e lâmina própria intestinal por volta dos 90 dias e baço com 175 dias (Tizard, 2013c). Os anticorpos são detectados pela primeira vez por volta de 180 dias de gestação. Em situações de estímulo imunológico, a resposta mediada por IgM e IgG pode ser observada com pelo menos 200 dias de gestação (Martin e Larson, 1973). Contudo, há poucas informações sobre a geração de imunoglobulinas no feto equino e sua relevância no combate a patógenos (Battista et al., 2014).

Em condições normais, recém-nascidos apresentam baixos níveis de imunoglobulinas antes da primeira mamada. O sistema imune do feto equino apresenta um repertório humoral que sofre expansão, apesar da diversidade limitada e independente do antígeno. Respostas antigênicas durante a vida fetal foram identificadas por meio de histologia e produção de anticorpos

específico para determinados antígenos. Em éguas naturalmente infectadas com *Neospora hughesi*, os potros nasceram com altos títulos de anticorpos, demonstrando resposta humoral com produção de diferentes isotipos (Tallmadge, 2016; Pusterla et al., 2011). Mesmo com produção de imunoglobulinas no período fetal e produção após o nascimento, o suporte imunológico materno é necessário durante as primeiras semanas de vida do potro. Isso se deve às baixas concentrações de imunoglobulinas ao nascimento, capacidade de fagocitose limitada do neonato e sua capacidade restrita de resposta a antígenos específicos (Perkins e Wagner, 2015).

4. SISTEMA IMUNOLÓGICO DO RECÉM-NASCIDO

4.1 Sistema imunológico inato

A imunidade inata está presente nos indivíduos com intuito de bloquear a invasão de microrganismos ou promover sua rápida eliminação. O sistema imunológico inato funcional é composto pelos sistemas de defesa pré-existentes e mecanismos com capacidade de indução rápida e eficaz. Nesse componente imunológico, a primeira linha de defesa são barreiras epiteliais da pele, tecidos da mucosa e células presentes no epitélio. Uma segunda linha está presente em casos de microrganismos entrarem em tecido e/ou circulação, sendo composta por células linfóides inatas, fagócitos e proteínas plasmáticas (Abbas, 2016). A competência do sistema inato pode ser medida pela capacidade fagocítica, marcadores de ativação, expressão de citocinas, fagocitose e capacidade de destruição do microrganismo. Entretanto, nos neonatos equinos, esse componente do sistema imunológico é crítico devido as respostas imunológicas específicas requererem exposição a antígenos e tempo para desenvolvimento de resposta (Flaminio et al., 2000).

A fagocitose e o *burst* oxidativo são importantes na remoção e eliminação do microrganismo do corpo. A atividade fagocítica e oxidativa intrínseca estão presentes nos fagócitos neonatais. Nesse período, os neutrófilos expressam mais moléculas integrinas CD18+ quando comparadas a cavalos adultos. Essas características proporcionam uma diapedese e interação célula a célula eficiente (Flaminio et al., 2000; Grondahl et al., 1999; Wichtel et al., 1991). No entanto, a fagocitose e eliminação dos agentes são dependentes de opsonização sinérgica entre patógeno, complemento e anticorpos (Gardner et al., 2007). Ao nascimento, os potros apresentam baixa expressão de fatores quimiotáticos e opsônicos, que gradativamente aumentam com ingestão do colostro e no decorrer das primeiras semanas de vida. Sua capacidade opsônica se torna comparável à de um adulto por volta de 3-4 semanas de vida (Gardner et al., 2007; Grondahl et

al., 1999). A função fagocítica do potro neonato é dependente da maturação dos fatores de opsonização e não da maturidade da função dos neutrófilos (Bernoco et al., 1987). Por esse motivo, a atividade neutrofílica é diminuída nas primeiras 3-4 semanas de vida, aumentando a susceptibilidade a infecções bacterianas desses animais (Morris et al., 1987).

A capacidade de opsonização sérica se desenvolve com a idade nos equinos, podendo ser comprometida em situações de infecções, pelo aumento do consumo. Quando comparados potros sépticos e potros saudáveis, observou-se uma redução da opsonização por parte dos potros doentes, sendo a transfusão de plasma um dos meios descritos para promover melhora dessa capacidade (Grondahl et al., 1999). Embora a capacidade opsônica em potros seja variável, acredita-se que ela dependa mais da ativação do sistema complemento do que a própria concentração sérica de imunoglobulinas (Grondahl et al., 1997). Um dos fatores intrínsecos dos neonatos com capacidade de induzir a opsonização é a Amiloide sérica A (SAA) produzida pelo fígado (Badolato et al., 2000). A SAA atua também na indução de quimiotaxia, degranulação celular e fagocitose (Badolato et al., 2000).

Os receptores Toll-Like (TLR) são componentes chaves do sistema imune inato, pelo seu papel no reconhecimento de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMP) e início de cascata de sinalização após a ligação. Os neutrófilos de potros recém-nascidos e potros com dois meses de idade expressam níveis de mRNA de TLR-9 comparáveis aos neutrófilos de animais adultos (Hayashi et al., 2003).

Além da indução de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos frente a agentes patológicos, há também transferência de mediadores inflamatórios (IL-6 e TNF- α) por meio do colostro. Foi observado a ausência de IL-6 e TNF- α no soro de potros antes da ingestão do colostro, porém com quantidades mensuráveis após a ingestão. O mecanismo de transferência passiva de citocinas maternas e a forma como elas afetam o sistema imunológico, ainda é desconhecido. Porém, a presença dessas citocinas no colostro com ausência de mediadores anti-inflamatórios (IL-10), reforça a resposta inflamatória aumentando o estado de alerta imunológico no neonato equino. A interpretação do aumento das concentrações de IL-6 e TNF- α deve ser considerado como transferência passiva e não necessariamente produção pelo potro em resposta a infecção e inflamação (Perkins et al., 2015).

Assim como acontece em outras espécies mamíferas, como bezerros, cordeiros e porcos, pode ocorrer absorção intestinal de leucócitos colostrais pelo potro. Os linfócitos maternos na circulação migram para tecidos linfóides secundários, onde fornecem proteção direta ou induzem resposta imune adaptativa (Tuboly e Bernath, 2002).

4.2 Sistema imunológico adaptativo

A imunidade adaptativa apresenta-se de duas formas, imunidade humoral e a mediada por células. A imunidade humoral é mediada por proteínas chamadas de anticorpos, que são produzidas pelos linfócitos B. Os anticorpos são secretados na circulação e fluidos da mucosa, com papel de neutralizar e eliminar microrganismos e toxinas presentes fora das células hospedeiras. Contudo, eles não podem ter acesso a microrganismos intracelulares. Os linfócitos T são células responsáveis pela imunidade mediada por células. Essas células atuam fagocitando e destruindo microrganismo ou eliminando qualquer tipo de célula hospedeira infectada. A especificidade dos linfócitos B e T diferem em aspectos importantes. Enquanto as células T reconhecem apenas antígenos de proteínas, as células B e os anticorpos são capazes de reconhecer diversos tipos de moléculas, incluindo proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e lipídios (Abbas et al., 2016).

A resposta inflamatória e fagocítica desencadeada pelo sistema imune inato, contribui na rápida destruição de microrganismos invasores. Embora eficiente, não é garantido resistência completa à infecção ou desenvolvimento de “memória” para novos desafios. Uma resposta imunológica completa deve compreender o reconhecimento de todas as moléculas estranhas do invasor, além de agregar informações com a experiência e o tempo, e desenvolver estratégias mais eficientes para combater infecções subsequentes. Essa nova e aprimorada resposta é função do sistema imunológico adaptativo. Durante a resposta imune, moléculas de microrganismos são capturadas, processadas e apresentadas às células do sistema imunológico. A partir de então, inicia-se uma resposta frente as moléculas ou antígenos, promovendo uma memória as moléculas apresentadas e adaptação para uma resposta mais eficaz ao encontrar esses microrganismos (Tizard, 2013a).

Embora parte do tecido linfóide do potro desenvolva-se durante a gestação, o sistema imunológico adaptativo é ingênuo aos microrganismos ambientais. Como o sistema imune inato tem reconhecimento limitados de PAMP's, o sistema adaptativo atua reconhecendo e respondendo a quase todas os antígenos (Tizard, 2013b). A exposição a patógenos após o nascimento promove uma expansão da população de linfócitos e aumento da massa de tecidos linfóides secundários (Flaminio et al., 2000). Nos primeiros cinco meses de vida há um aumento linear na população de linfócitos B e T circulantes, atingindo números superiores a cavalos adultos por alguns meses. Na sequência há queda nessa população atingindo valores de referência para adultos (Flaminio et al., 1999). Esse aumento reflete a exposição a uma infinidade de antígenos, promovendo ativação de linfócitos e conseqüentemente sua

proliferação. O aumento nessa população celular é um sinal desejável e representa um sistema imunológico ativo. Mesmo com aumento consistente e linear no número e proporções de subconjuntos de linfócitos, há variações individuais em relação às concentrações iniciais. Os períodos de concentrações inferiores para subconjunto de linfócitos, proporciona um aumento da susceptibilidade a doenças infecciosas nesse período (Smith et al., 2002).

No desenvolvimento da resposta adaptativa, as células de processamento devem ser atraídas pelos microrganismos e/ou danos teciduais. Sua ativação ocorre pelos mesmos estímulos responsáveis por desencadear a inflamação. As células sentinelas nos tecidos são os macrófagos e células dendríticas, sendo estas responsáveis também pelo processamento. Com isso, tanto o processamento dos antígenos quanto a eliminação do invasor ocorrem ao mesmo tempo. O processamento envolve a quebra de grandes moléculas de proteínas em pequenos peptídeos, sendo esses apresentados aos receptores de antígenos especializados chamados de complexo principal de histocompatibilidade (MHC). A imunidade adaptativa é desencadeada quando esses peptídeos ligados ao MHC são reconhecidos por receptores específicos nos linfócitos (células T) (Tizard, 2013c).

Vários aspectos das células apresentadoras de antígenos neonatais exibem mudanças ao longo dos primeiros meses de vida. A expressão reduzida de MHC classe II (presente em células apresentadoras de antígenos) em potros com menos de três meses de idade limita sua capacidade de apresentação de antígenos processados às células T. Mesmo na presença de fragmentos de DNA bacteriano com capacidade imunoestimulador (CpG), potros até três meses de idade não alteram a expressão de mRNA da citocina em resposta ao estímulo. Em contrapartida, diante do mesmo estímulo bacteriano, há indução da proliferação de leucócitos já aos dois dias de vida. Mesmo com o estímulo e a presença do marcador coestimulador CD86 em níveis semelhantes ao adulto, potros possuem um menor número de células dendríticas maduras (Flaminio et al., 2007). Especula-se que as células apresentadoras de antígenos dos potros se comportem como as dos neonatos humanos, sendo necessário múltiplos estímulos para uma ativação competente (Tallmadge, 2016).

Mesmo com produção endógena de imunoglobulinas durante a vida fetal, seus níveis séricos baixos não conferem mecanismo protetivo ao nascimento. A produção endógena só atinge níveis satisfatórios por volta de 2-3 meses de vida, independente da ingestão de colostro (Jeffcott, 1975). Mesmo em potros nascidos de éguas hipermunizadas, os níveis de imunoglobulinas antes da mamada são baixos e não conferem valores protetivos (Jeffcott, 1974b). A baixa população de linfócitos no pulmão do neonato associado a baixos níveis de

IgA detectado no trato respiratório até 28 dias de idade, predispõe esses animais a doenças do trato respiratório (Sheoran et al., 2000). No trato gastrointestinal, o desenvolvimento do tecido linfoide é intenso após o nascimento, com placas de Payer's e gânglios linfáticos mesentéricos óbvios após as três primeiras semanas de vida. Embora os potros provavelmente ao nascimento possuam recursos do sistema imunológico para a mucosa intestinal, é somente após a exposição a microrganismos que há expansão na população de linfócitos. Portanto, a exposição a organismos patogênicos antes de contatos prévios com microrganismos, pode causar doenças. Com isso, as imunoglobulinas, particularmente IgA, transmitidas de maneira passiva pelo colostro e leite, conferem proteção passiva significativa da mucosa, com neutralização e opsonização eficaz de patógenos e toxinas (Tallmadge, 2016).

5. TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE

O colostro se acumula na glândula mamária nas últimas semanas de gestação. Sua composição difere do leite em vários aspectos, incluindo maiores concentrações de proteínas e gorduras, porém com menor concentração de lactose. A alta concentração de proteína é um reflexo da presença de imunoglobulinas, presentes nos alvéolos sob influência de estrogênios e progesterona no final da gestação (Lavoie et al., 1989). A glândula mamária não é alto suficiente na síntese de imunoglobulinas, porém tem capacidade seletiva para concentrar as Ig presentes no sangue (Jeffcott, 1974a).

Com a ausência de transferência de imunoglobulinas maternas para o feto no período intrauterino, a proteção contra patógenos oportunistas é fornecida através da ingestão de colostro no pós-parto imediato. A transferência das imunoglobulinas colostrais para o potro ocorre mediante absorção intestinal através de receptores específicos, expressos de maneira transitória, denominados Receptor Fc neonatal (FcRn) (Roopenian e Akilesh, 2007). Uma vez ligados aos FcRn, as moléculas de imunoglobulinas são captadas pelas células intestinais e transferidas para capilares intestinais. Em seguida, a imunoglobulina atinge a corrente sanguínea e provem ao potro a transferência passiva (Tizard, 2013c).

Conforme o potro mama, a concentração de Ig no colostro diminui, transformando-se em leite nas primeiras 12 a 24 horas pós-parto. De forma geral, o período de maior absorção de imunoglobulinas é após o nascimento, diminuindo após cerca de 6 horas. A diminuição de permeabilidade se dá pela substituição de células intestinais contendo FcRn por células que não expressam esse receptor. A absorção de todas as classes de imunoglobulinas cai para níveis

baixos após cerca de 24 horas (Tizard, 2013c; Jeffcott, 1971). A alimentação com colostro tende a acelerar esse fechamento, enquanto o atraso na alimentação resulta em ligeiro aumento no tempo de fechamento (Tizard, 2013a). Esse período de transferência é oportuno e importante para prevenção de infecções no período neonatal (McGuire et al., 1977). Embora as imunoglobulinas do colostro recebam maior ênfase, outros componentes do sistema imunológico materno, como células e citocinas, desempenham um papel importante na proteção e desenvolvimento do sistema imunológico do potro (Perkins e Wagner, 2015).

A dinâmica entre anticorpos derivados do colostro circulante e produção endógena são importantes e essenciais na proteção humoral não apenas no nascimento, tal como nos primeiros meses de vida (Tallmadge, 2016). A concentração mínima de IgG para conferir proteção contra infecções nos potros é dependente de fatores relacionados ao patógeno, indivíduo, meio ambiente e manejo dos animais (McGuire et al., 1975). Para ser considerado como adequada transferência de imunoglobulinas maternas através do colostro, o potro deve apresentar concentração sérica acima de 800 mg/dL de IgG. Com a meia-vida das imunoglobulinas G por volta de 30 dias, nesse período o potro já deve estar apto a produção endógena para suprir essa queda e manter níveis adequados de proteção (Lavoie et al., 1989a; Perryman, 1981; McGuire e Crawford, 1973). A diminuição relativa dos anticorpos colostrais é proporcional a quantidade inicial de imunoglobulinas absorvidas no nascimento. Portanto, maiores concentrações de IgG colostrais manterão níveis adequados por mais tempo. Considerando a meia-vida das IgG colostrais de 30 dias, o nível mínimo de imunoglobulinas para conferir proteção no final do primeiro mês é de 500 mg/dL. Com isso, a concentração sérica de imunoglobulinas transferida pelo colostro irá refletir na imunidade durante os primeiros 30 dias de vida (Fig. 1) (Tallmadge, 2016; Flaminio e Tallmadge, 2011). Mesmo variando entre raças, a transferência passiva de imunoglobulinas ocorre naturalmente em níveis superiores a 800 mg/dL, situação considerada como adequada transferência de imunidade passiva (Flaminio et al., 2000).

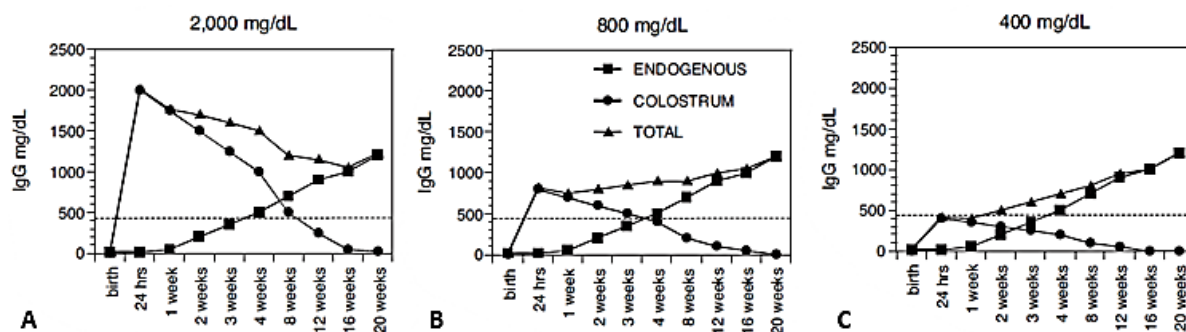


Figura 1- Concentrações hipotéticas de imunoglobulinas G séricas em potros, incluindo IgG colostral (círculo), produção de IgG endógena (quadrados) e a soma de ambos (triângulos). A linha tracejada indica níveis mínimos de proteção (400-500mg/dL). Em A, adequada transferência passiva de imunidade através do colostro atingindo níveis séricos no potro de 2.000mg/dL e sua posterior queda nas concentrações. Mesmo com a diminuição de IgG colostrais e produção endógena crescente, os potros apresentam níveis médios sempre acima dos limites mínimos protetivos. Em B, mesmo com concentrações iniciais de IgG sérica de 800mg/dL no potro recém-nascido, a média sérica está acima dos níveis que conferem proteção em todos os momentos do gráfico. C, concentração sérica inicial de 400mg/dL representando uma falha na transferência passiva de imunidade. Nesse cenário, o potro já está em risco desde a primeira semana de vida. Há uma janela de susceptibilidade enquanto a produção endógena não consegue suprir essa baixa concentração inicial. Adaptado de Flaminio e Tallmadge, 2011.

A imunoglobulina G é a mais abundante no colostro, com IgA em menor concentração. A principal subclasse da imunoglobulina G presente no colostro é a IgG4/7, sendo sugerido seu papel na proteção bacteriana e viral. Contudo, a presença de IgG1, IgG3/5 e IgA mediam funções imunológicas importantes e contribuem para proteção geral do recém-nascido (McGuire et al., 1977). Os protocolos de vacinação das éguas gestantes para determinadas doenças, aumentam a transferência de IgG específicas por meio do colostro e conferem proteção para determinados antígenos.

As citocinas são importantes moduladores da resposta imune. As principais citocinas inflamatórias presentes no colostro e passíveis de absorção pelos potros são IL-6 e TNF- α . Mesmo com poucas informações acerca do papel das citocinas maternas no recém-nascido, a transferência contribui para imunomodulação logo após o nascimento (Burton et al., 2009). O TNF- α , tem sua importância na indução e persistência na resposta inflamatória durante infecções, com papel ativo na ativação de macrófagos para produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, indução de células T na produção de IL-2 e Interferon- γ e promoção de diapedese por células imunes (Beutler e Cerami, 1989). A IL-6 é predominantemente produzida por leucócitos e hepatócitos em respostas a traumas e processos infecciosos. Em situações normais de potros com ingestão adequada de colostro, há maiores concentração de IL-6 no soro dos potros após a primeira mamada. A sua presença no colostro e conseqüentemente absorção,

explica em partes a sua concentração sérica menor em potros com falhas na transferência de imunidade que desenvolveram sepse. Porém, a explicação para o potro neonato não ter capacidade de montar uma resposta com produção adequada de IL-6, como acontece em neonatos humanos, ainda é desconhecida (Burton et al., 2009; Nguyen et al., 2007).

Outras citocinas presentes no colostro e soro de potros pós-mamada são a IFN- γ e IL-8, sugerindo transferência passiva para o recém-nascido. Outras citocinas encontradas no colostro, sem aumento significativo no potro pós-mamada, são IL-4 e IL-13 (Mariella et al., 2017).

6. FATORES DE RISCO PARA DESENVOLVIMENTO DE INFECÇÕES LOCAIS OU SEPSE

Diversas condições pré e pós-natais, predispõe os neonatos ao desenvolvimento de infecções locais e/ou sepse. Fatores no período pré-natal, em sua grande maioria, são relacionados a alterações na égua e são responsáveis por aproximadamente 24% dos casos de sepse neonatal. As principais causas incluem placentite, separação prematura da placenta, distocia e presença de enfermidades maternas durante a gestação (Stewart et al., 2002; Wohlfender et al., 2009).

Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento de infecções locais e sepse, destacam-se os aspectos imunológicos no período periparto (Paradis, 1994). A infecção nos neonatos implica em dois eventos, exposição aos patógenos e capacidade de resposta defensiva. Ainda no útero, o feto equino tem capacidade de resposta imunológica, porém reduzida quando comparado a animais adultos. A transferência de imunidade passiva (TIP) pós-natal é a principal via que confere ao potro imunidade nos primeiros meses de vida. Consequentemente, as falhas na transferência constituem o principal fator de risco de sepse e morte em potros neonatos (Sanchez, 2005; Brewer, 1990).

O meio ambiente no qual o potro é introduzido torna-se um desafio imunológico e um componente de risco ao desenvolvimento de infecções (Baldwin e Pritchard, 1992). O ambiente peri-natal contém microrganismo que podem ter acesso a circulação, seja através de mucosas, pele ou até por meio de suprimento sanguíneo (cordão umbilical). Tanto microrganismo presentes no ambiente quanto os encontrados na pele, mucosa e fezes da mãe são potenciais riscos ao recém-nascido (Barton, 2006). As principais rotas de infecção pós-natal são mucosa intestinal, respiratória, pele e umbigo. O intestino é uma das principais vias de infecção nesse período, devido à falta de distinção no tipo de molécula absorvida pelas células intestinais

durante a endocitose. Com isso, há possibilidade de absorção de patógenos oportunistas pela mucosa intestinal (Madigan, 1997).

7. MONITORAMENTO CLÍNICO

7.1 Parâmetros de avaliação no periparto

O manejo rotineiro da égua periparturiente e neonatal tem como objetivo a avaliação física e comportamental de ambos, bem como o reconhecimento de anormalidades que sinalizam doenças. A realização do exame físico neonatal não difere completamente dos animais adultos, porém parâmetros vitais, valores laboratoriais e progressão de doença apresentam ampla variação. Estas diferenças devem ser conhecidas para que as informações obtidas direcionem para diagnósticos presuntivos, testes auxiliares e planos terapêuticos. Entretanto, além das diferenças quando comparado aos animais adultos, os próprios neonatos apresentam alterações baseadas em sua idade, tornando o conhecimento das variações fisiológicas ainda mais criterioso (Bernard e Reimer, 2018).

O reconhecimento de problemas inicia com avaliações da égua, destacando-se alterações como, lactação prematura, secreções vaginais, alterações comportamentais, tempo gestacional anormal e exposição a fatores que afetam a gestação (Byars e Simon, 2011). Durante o período gestacional, a égua deve ser mantida em um ambiente seguro e ser submetida a protocolos sanitários adequados, auxiliando assim na produção de colostro de boa qualidade (Frazer et al., 1999). Na espécie equina, o parto é um evento rápido que na maioria das vezes ocorre sem intercorrências (Frazer et al., 1999). O segundo estágio do parto, relacionado ao nascimento do potro, não deve ultrapassar 30 minutos (Lynch et al., 2007). Após o nascimento, o potro deve estar em pé e mamando em até 2 horas. Partos prolongados e potros pouco ativos após o nascimento são fatores de risco para o desenvolvimento de enfermidades neonatais (Knottenbelt et al., 2004a).

Diferente de animais adultos, os recém-nascidos podem apresentar mudanças clínicas significativas em poucas horas. Além disso, os sinais na maioria das vezes são inespecíficos e podem passar despercebidos até que o comprometimento esteja considerável. É fundamental que a monitoração neonatal seja frequente e que sinais não sejam negligenciados (Knottenbelt et al., 2004b).

Imediatamente após o parto, características físicas e comportamentais neonatais devem ser avaliadas. A avaliação comportamental deve incluir tempo para assumir postura esternal,

presença de reflexo de sucção, tempo para postura em estação e para a primeira mamada. Deve-se avaliar também as mucosas, tempo para micção e eliminação do mecônio (Quadro 1), além da avaliação física completa (Stoneham, 2006).

Embora o nível de excitação possa dificultar a aferição dos índices paramétricos, sua determinação deve ser incluída na avaliação e monitoração neonatal. De forma geral, os parâmetros de normalidade para os índices paramétricos estão expressos, por idade, no Quadro 2 (Stoneham, 2006).

Quadro 1: Tempo médio para características comportamentais dos potros recém-nascidos

	Esternal (min)	Estação (h)	Primeira mamada (h)	Eliminação Mecônio (h)	Primeira micção (h)
Tempo médio	5	0-1	0-2	2-12	6-10

Abreviações: min, minutos; h, horas. Adaptado de Stoneham, 2006.

Quadro 2: Parâmetros normais de referência de frequência cardíaca, respiratória e temperatura para potros recém-nascidos

	Nascimento	0-2 horas	12 horas	24 horas
Temperatura (°C)	37-39	37-39	37-39	37-39
FR (bpm)	Ofegante	40-60	30-40	30-35
FC (mpm)	60-80	120-150	80-120	80-100

Abreviações: °C, graus Celsius; FR, frequência respiratória; bpm, batimentos por minutos; FR, frequência respiratória; mpm, movimentos respiratórios por minuto. Adaptado de Stoneham, 2006.

Além dos índices paramétricos, ausculta criteriosa deve ser incluída na avaliação cardíaca e respiratória. Na avaliação cardíaca é importante determinar ritmo e presença de sopros, este último é comum nos neonatos. A persistência do ducto arterioso pode gerar sopro audível na base do coração, que desaparece com 72 a 96 horas de vida. Embora a ausculta respiratória possa identificar alterações sugestivas de afecção respiratória de vias posteriores, sua avaliação deve sempre ser associada com o padrão respiratório. Apenas a ausculta do pulmão não é um indicador confiável. Muitos animais apresentam alterações sutis na ausculta mesmo na presença de doenças graves. Em condições normais, a inspiração e expiração geram um suave movimento da parede torácica, enquanto a presença de doença respiratória pode gerar um esforço respiratório progressivo, culminando com perda de sincronia entre movimento torácico e abdominal (movimento paradoxal). Além da ausculta e inspeção respiratória, deve ser

realizado palpação do tórax para determinar se há fraturas de costelas (Bernard e Reimer, 2018; Stoneham, 2006; Koterba, 1990).

A palpação do abdômen do neonato tem limitações a depender da cooperação do animal e tensão da musculatura abdominal. O abdômen deve ser avaliado quanto a distensão, presença de hérnias e sensibilidade. Em animais pequenos e relaxados pode-se identificar massas ou compactações do cólon maior por meio da palpação, bem como o balotamento do abdômen pode distinguir a localização de fluidos abdominais. Borboríngos intestinais normalmente são auscultados com facilidade nos potros (Stoneham, 2006; Koterba, 1990). Durante o exame do umbigo é possível avaliar a presença de hérnias, infecções umbilicais (secreção, sensibilidade e aumento de tamanho) e úraco patente. A anormalidade mais comum do umbigo é o úraco patente que pode ter caráter congênito ou adquirido (Koterba, 1990).

Alterações ortopédicas mais significativas podem ser identificadas com o animal em decúbito ou quando em estação e caminhando. Avaliações de reflexos neurológicos podem ser difíceis, pois a contenção pode gerar excitação ou menor reatividade aos reflexos espinhais e de ameaça pode ser identificada, condição normal nessa faixa etária (Byars e Simon, 2011). No recém-nascido, o grau de incoordenação gera dificuldade para avaliação neurológica dinâmica (Knottenbelt et al., 2004b).

De forma geral, os neonatos normais são alertas, curiosos e quando abortados se direcionam rapidamente para o lado da égua. Durante a primeira semana se alimentam por volta de 5 a 7 vezes por hora, durante 2 minutos. Estes animais são extremamente sensíveis a estímulos táteis e podem apresentar movimentos de cabeça exagerados. Inicialmente tem postura em estação bastante ampla e sua marcha pode parecer hipermetria (Stoneham, 2006).

Além do exame físico detalhado, exames complementares sanguíneos podem ser realizados a partir do primeiro dia para assegurar identificação de alterações em estágios iniciais e avaliação de transferência de imunidade. O reconhecimento precoce possibilita maiores chances de tratamentos bem-sucedidos (Knottenbelt et al., 2004b).

Parâmetros específicos para a faixa etária devem ser utilizados para interpretação de exames hematológicos e bioquímicos. Contudo, vale destacar as variações entre metodologia laboratorial, amplitude de intervalos normais e diferenças entre raças. Embora a variação entre raças seja conhecida e tenha sua importância clínica, há poucos dados de intervalos de referência específicos. Dessa forma, a maioria das avaliações utiliza como referência dados de

raças diferentes daquela que está sendo avaliada (Stoneham, 2006; Koterba, 1900; Bauer et al., 1984; Harvey et al., 1984).

Independente de raça, localização e/ou metodologia laboratorial a dinâmica dos parâmetros laboratoriais nos animais recém-nascidos deve ser considerada. As principais variações estão correlacionadas com adaptação neonatal, ingestão de colostro, maturidade e desenvolvimento orgânico. Esses parâmetros sofrem mudanças imediatamente após o nascimento, estendendo-se às primeiras semanas de vida (Bernard e Reimer, 2018). Para maior precisão na avaliação recomenda-se a utilização de parâmetros baseados em características específicas para a faixa etária dos animais, porém essas informações são escassas para maioria das raças.

Dentre as variações que ocorrem nos primeiros momentos da vida dos neonatos equinos, destacam-se o aumento do hematócrito e hemoglobina, identificados imediatamente após o parto, e sua posterior diminuição, quando comparado a adultos. Esta diminuição é evidente durante as primeiras semanas e considerada como “anemia fisiológica”; deve-se considerá-la patológica se a diminuição dos valores persistir por mais de seis meses e/ou não aumentar com a idade. Mesmo com o aumento gradativo que se inicia entre cinco e seis meses de vida, os valores permanecem abaixo da referência de adultos no primeiro ano de vida (Bernard e Reimer, 2018; Harvey, 1990). A contagem total de leucócitos se assemelha a animais adultos após o nascimento, porém variações individuais podem ocorrer em relação ao total de neutrófilos e linfócitos. Após o nascimento, a maior proporção de neutrófilo quando comparado a linfócitos é indicativo de maturidade hematopoiética (Harvey, 1990).

Aumento significativo na concentração de proteínas plasmática totais ocorrem devido a absorção de proteínas colostrais. Dessa forma, com a ingestão de colostro e leite há um aumento persistente na sua concentração. Entretanto, aumento de proteínas não é sinônimo de absorção de imunoglobulinas colostrais (Bernard e Reimer, 2018).

Enzimas séricas podem apresentar elevações nos primeiros dias até semanas de vida. Destacam-se principalmente a creatinina quinase, fosfatase alcalina (ALP), Gama glutamiltransferase (GGT), Sorbitol desidrogenase (SDH) e aspartato aminotransferase (AST). Seus aumentos estão relacionados a maturação e desenvolvimento orgânico, traumas naturais durante o parto e nível de atividade do neonato. Contudo, a interpretação das enzimas séricas deve ser feita em conjunto com sinais clínicos (Bernard e Reimer, 2018). Para avaliações mais fidedignas deve ser sempre utilizado a atividade enzimática mais específica para o tecido ou órgão a ser avaliado (Bauer, 1990).

A creatinina sérica e ureia nitrogenada também são indicadores de função renal, assim como acontece nos animais adultos. Contudo, a creatinina pode apresentar concentração elevada, quando comparado aos adultos, no pós-parto imediato com diminuição gradativa nos primeiros dias de vida. Esta diminuição está relacionada a amamentação, adequada hidratação e desenvolvimento do sistema do renal (Bauer, 1990; Becht e Semrad, 1985). A ureia nitrogenada inicialmente apresenta concentração similar aos adultos, com diminuição observada a partir dos primeiros 3 dias de vida (Stoneham, 2006; Bauer, 1990). É normal os neonatos apresentarem proteinúria transitória nas primeiras 24 horas de vida e baixa gravidade específica da urina (1.000-1.025), atribuído a secreção tubular imatura e resposta a hidratação respectivamente (Stoneham, 2006).

É recomendado que a rotina de avaliação do recém-nascido equino aconteça com no máximo 12 horas após o nascimento, para que o estado de saúde e necessidade de terapia sejam determinados.

7.2 Diagnóstico de SIRS e Sepsis

Diversas condições infecciosas e não-infecciosas são responsáveis por óbito de potros no período neonatal. Dentre elas, destaca-se a sepsis como a principal causa de mortalidade nos primeiros sete dias de vida (Cohen, 1994). Diversos sinais iniciais alertam sobre a presença de afecções em neonatos, dentre eles destacam-se a diminuição de atividade, apatia, aumento do período em decúbito, inabilidade de seguir a mãe, falha no ganho de peso e diminuição da frequência de mamadas. Esses sinais estão frequentemente associados ao início da febre, que devido a sua natureza cíclica, muitas vezes não é detectada se não avaliada de forma seriada. Entretanto, as respostas clínicas podem variar de acordo com a duração e intensidade do insulto (Barton, 2006).

A SIRS é definida como resposta imune pro-inflamatória de apresentação clínica e não específica, podendo acontecer em resposta a diversos insultos (trauma, infecções, isquemia, anafilaxia). Nos casos de SIRS decorrentes de infecção, seja ela suspeita ou confirmada, o paciente é classificado como séptico. Como o principal gatilho da SIRS em neonatos são os processos infecciosos, seu diagnóstico direciona para identificação precoce de animais sépticos (Bone et al., 1992; Brewer e Koterba, 1988).

O padrão de resposta sistêmica dos animais com SIRS gera alterações que podem ser identificadas por exames físicos e laboratoriais. Essas mudanças clínicas são utilizadas para diagnóstico de SIRS. Como os animais jovens apresentam diversas mudanças oriundas do seu

desenvolvimento, os parâmetros avaliados são adaptados para as diversas faixas etárias (Quadro 3) (Wong e Wilkins, 2015).

Quadro 3- Parâmetros utilizados para definição de SIRS baseado na faixa etária dos animais

PARÂMETROS	IDADE			
	Recém-nascido (até 3 d.)	Neonato (4-14 d.)	Potro jovem (15 d. a 6 m.)	Potro desmame (7 m. a 1 a.)
Temperatura retal	>39,2 °C ou <37,2 °C	>39,2 °C ou <37,2 °C	>39,2 °C ou <37,2 °C	>39,2 °C ou <37,2 °C
Taquicardia (batimentos/min)	>115	>120	>96	>60
Taquipneia (respirações/min)	>56	>56	>44	>20
Leucócitos (x 10³) ou > 5% bastonetes	>14,4 ou <6,9	>12,5 ou <4,0	>12,5 ou <4,0	>12,5 ou <4,0
Lactato venoso (mmol/L)	>5,0	>2,5	>2,5	>2,5
Glicose venosa (mg/dL)	<50	<50	<50	<50

Abreviações: min, minutos; mmol/L, milimol por litro; mg/dL, miligrama por decilitro; °C, graus Celsius; d., dias de vida; m., meses de vida; a., anos de vida. Adaptado de Wong e Wilkins, 2015.

Com base nos critérios descritos no Quadro 3, sugeriu-se que o diagnóstico clínico de SIRS requer alteração em três ou mais parâmetros, sendo um deles alteração de temperatura ou contagem global de leucócitos (Wong e Wilkins, 2015).

Devido as características imunológicas do neonato e visando diminuir a mortalidade, os animais positivos nos critérios de SIRS são considerados com maior chance de serem sépticos. Em casos de SIRS, a realização de hemoculturas e acompanhamento do desenvolvimento de infecções em locais específicos contribuem na confirmação da sepse (Wong et al., 2018). Os principais locais de avaliação e acompanhamento para a presença de focos infecciosos são os tecidos sinoviais, trato uveal, meninges, endocárdio, pele, rim, músculos e fises. O local de eleição nesses órgãos se dá pela grande proporção que recebem do débito cardíaco, baixo fluxo ou via única de suprimento sanguíneo (Barton, 2006).

Para diagnóstico de sepse, a cultura sanguínea é considerada o “teste ouro”, permitindo determinar o padrão de infecção, microrganismo envolvido e direcionar a terapia. Porém, suas limitações de tempo até o resultado e baixa sensibilidade estabelece necessidade de métodos adicionais no diagnóstico (McKenzie, 2018; Barton, 2006; Wilson e Madigan, 1989). Com isso,

Brewer e Koterba (1988) desenvolveram uma escala de critérios e pontuações para determinação de sepse neonatal (Quadro 4).

Quadro 4- Escore de sepse para neonatos equinos

Número de pontos a serem atribuídos					
Informações coletadas	4	3	2	1	0
I. CBC					
Contagem de neutrófilos		<2x10 ⁹ /L	2,0-4,0 ou >12,0	8,0-12,0	Normal
Contagem de neutrófilos imaturos		>0,2x10 ⁹ /L	0,05-0,2		<0,05
Corpúsculos tóxicos, granulação e vacuolação	Acentuado	Moderado	Poucos		Nenhum
Fibrinogênio (g/L)			>6,0	4,1-6,0	≤4,4
II. Outros dados laboratoriais					
Hipoglicemia			<2,7mmol/L	2,7-4,4	>4,4
Turbidez no sulfato de zinco	<2,0	2,0-4,0	4,1-8,0		>8,0
Oxigênio arterial		<40	40-50	51-70	>70
Acidose metabólica				Sim	Não
III. Exame Clínico					
Petéquias ou ingurgitamento escleral sem trauma		Intensa	Moderado	Discreta	Nenhuma
Febre			>38,9°C	<37,8°C	Normal
Hipotonia, coma, depressão, convulsão.			Intenso	Discreto	Normal
Uveíte, diarreia, dificuldade respiratória, feridas, efusão articular		Sim			Não
IV. Histórico					
Distocia, corrimento vulvar antes do parto, placentite, égua doente, indução do parto		Sim			Não
Prematuridade		<300 dias	300-310	311-330	>330
Total de pontos:					

Abreviações: CBC, contagem de células brancas; g, gramas; L, litros; °C, graus Celsius. Adaptado de Brewer e Koterba, 1988.

Os 14 critérios avaliados são referentes a avaliação clínica, laboratorial e históricos dos animais, atribuindo valores de 0-4 em cada parâmetro (Quadro 4). Devido ao peso das informações referentes ao histórico e alterações clínicas do potro, o escore permite determinar potros positivos antes do resultado da hemocultura e até em animais com culturas negativas. O resultado ≥ 12 representa escore positivo para sepse com sensibilidade de 94% e especificidade

de 85,9%. O escore pode ser reaplicado em potros com pontuação <11 ou ainda em suspeita de sepsis (Brewer e Kotterba, 1988). Ao longo dos anos diversas pesquisas tentaram replicar os índices de especificidade e sensibilidade, porém nenhuma adaptação ou reformulação de critérios mostrou-se com melhores resultados.

Embora o objetivo do sistema de pontuação seja a padronização e classificação dos potros sépticos, a avaliação clínica é um componente crítico na determinação de muitos casos. O escore de sepsis tem aplicabilidade prática e científica, porém suas limitações devem ser conhecidas e sua utilização jamais deverá substituir o julgamento clínico (van Nieuwenhoven et al., 1998). Seguindo as premissas de importância dos achados clínicos, Weber et al., (2015) sugeriram classificar como animais sépticos aqueles que forem positivos para os critérios de SIRS associado a infecção.

Durante o acompanhamento de animais sépticos, a identificação de vários sítios de infecção se torna parâmetros usados na confirmação e progressão do quadro. Com o objetivo de identificação de possíveis locais primários e secundários, diagnósticos auxiliares devem fazer parte da rotina de avaliação e acompanhamento desses animais. Com esse intuito, a avaliação rotineira de hemogasometria, radiografias torácicas, ultrassonografia torácica e abdominal, identificação de sinais neurológicos e alterações periarticulares são indicados. A avaliação de creatinina sérica e eletrólitos deve ser periódica, visto que a insuficiência renal aguda é uma manifestação comum em animais sépticos (Barton, 2006).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a placenta equina seja eficiente na proteção do feto contra respostas imunes materna e patógenos, suas características morfológicas impedem a transferência imunológica. Com isso, os neonatos equinos se tornam dependente da transferência de imunidade pós-natal via colostro. A compreensão do sistema imunológico é importante na identificação da relação entre idade, deficiências e desenvolvimento nos animais. Embora os mecanismos imunológicos básicos dos potros e equinos adultos sejam semelhantes, a regulação imunológica e respostas a estímulos são diferentes. Como os neonatos equinos são a faixa etária mais susceptível a insultos infecciosos, o diagnóstico precoce se torna uma ferramenta importante na diminuição da mortalidade. Dessa forma, a utilização de escores para SIRS e sepsis torna o diagnóstico mais objetivo e permite identificação antecipada de animais sépticos.

9. REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Introduction to the immune system. In: ____ *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*, Elsevier, St. Louis, Missouri, 2016. Cap. 1, p. 1- 25.
- ABD-ELNAEIM, M. M. M.; LEISER, R.; WILSHER, S.; et al. Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares. *Placenta*, v. 27, p. 1103-1113, 2006.
- ABD-ELNAEIM, M.; LEISER, R.; ALLEN, W. R. Structural and haematological aspects of the equine placenta in mid-pregnancy. *Havemeyer Found. Monogr. Ser.*, v. 10, n. 1, p. 39-42, 2003.
- ALLEN, W.; WILSHER, S.; TURNBULL, C.; et al. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. *Reproduction*, v. 172, p. 445-453, 2002.
- ALLEN, W. R.; WILSHER, S.; et al. The influence of maternal size on pre-and postnatal growth in the horse: III Postnatal growth. *Reproduction*, v. 127, n. 1, p. 67-77, 2004.
- BADOLATO, R.; WANG, J. M.; STORNELLO, S. L.; et al. Serum amyloid A is an activator of PMN antimicrobial functions: induction of degranulation, phagocytosis, and enhancement of anti-Candida activity. *J. Leukoc. Biol.*, n. 67, v. 3, p. 381-386, 2000.
- BALDWIN, J. L.; PRITCHARD, E. L. Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. *J. Am. Vet. Medic. Assoc.*, v. 200, n. 2, p. 179-183, 1992.
- BARDELLI, P. C. Sulla trasmissione dell'immunith contra il tetano da madre a figlio nel cavallo. *Annali Ig. Sper*, v. 40, p. 675-680, 1930.
- BARTON, M. H. Septicemia. In: PARADIS, M. R. *Equine Neonatal Medicine*. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, 2006. Cap. 5, p. 75-97.
- BATTISTA, J. M.; TALLMADGE, R. L.; STOKOL, T.; et al. Hematopoiesis in the equine fetal liver suggests immune preparedness. *Immunogenetics*, n. 66, v. 11, p. 635-649, 2014.
- BAUER, J. E. Normal Blood Chemistry. In: KOTERBA A, DRUMMOND W, KOSCH P, editors. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. Cap. 27, p. 602-614.

- BAUER, J. E.; HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; et al. Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 361-363, 1984.
- BERNARD, W. V.; REIMER J. M. Physical Examination. In: BERNARD, W.; BARR, B. *Equine Pediatric Medicine*, 2. Ed., CRC Press, New York, USA, 2018. Cap. 1, p. 1-16.
- BERNOCO, M.; LIU, I. K.; WUEST-EHLERT, C. J.; et al. Chemotactic and phagocytic function of peripheral blood polymorphonuclear leucocytes in newborn foals. *J. Reprod. Fertil.*, n. 35, p. 599–605, 1987.
- BEUTLER, B.; CERAMI, A. The biology of cachectin/TNF—a primary mediator of the host response. *Annu. Rev. Immunol.*, n. 7, p. 625-655, 1989.
- BJÖRKMAN, N. *An Atlas of Placental Fine Structure*. London: Baillibre. Tindall and Cassell, 1970. p. 9-12.
- BONE, R. C.; BALK, R. A.; CERRA, F. B.; et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, v. 101, n. 6, p. 1644–1655, 1992.
- BORGHESI, J., MARIO, L. C.; RODRIGUES, M. N.; et al. Immunoglobulin transport during gestation in domestic animals and humans—a review. *Open J. Anim. Sci.*, v. 4, n. 5, p. 323, 2014.
- BREWER, B. D.; KOTERBA, A. M. Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. *Equine Vet. J.*, v. 20, n. 1, p. 18-22, 1988.
- BREWER, B. D.; KOTERBA, A. M.; CARTER, R. L.; et al. Comparison of empirically developed sepsis score with a computer generated and weighted scoring system for the identification of sepsis in the equine neonate. *Equine Vet. J.*, v. 20, n. 1, p.23–24, 1988.
- BREWER, B. Neonatal Infection. In: KOTERBA, A. M.; DRUMMOND, W. H.; KOSCH, P.C. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990, p. 296– 317
- BROLIO, M. P.; AMBRÓSIO, C. E.; FRANCIOLLI, A. R.; et al. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Ver. Bras. de Reprod. Anim.*, v. 34, n. 4, p. 222-232, 2010.
- BURTON, A. B.; WAGNER, B.; ERB, H. N.; et al. Serum interleukin-6 (IL-6) and IL-10 concentrations in normal and septic neonatal foals. *Vet. Immunol. Immunopathol.* n. 132, p. 122-128, 2009.

BUTLER, J. E.; SUN, X.; WERTZ, N.; et al. Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets XXI. Usage of most VH genes remains constant during fetal and postnatal development. *Mol. Immunol.*, n. 49, p. 483-494, 2011.

BYARS, T. D.; SIMON, B. W. Peri-parturient Management of the Mare and Neonate. In: McKINNON et al. *Equine Reproduction*, 2. Ed., JohnWiley & Sons Ltd, Ames, Iowa, 2011. Cap. 10, p. 111-113.

CARTER, A. M.; ENDERS, A. C. The evolution of epitheliochorial placentation. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, v. 1, n. 1, p. 443-467, 2013.

COHEN, N. D. Causes of and farm management factors associated with disease and death in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 204, n. 10, p. 1644-1651, 1994.

FLAMINIO, M. J. B. F.; TALMADGE, R. Development of the Foal Immune System. In: McKINNON et al. *Equine Reproduction*, 2. Ed., JohnWiley & Sons Ltd, Ames, Iowa, 2011. Cap. 32, p. 331-341.

FLAMINIO, M. J. B.; RUSH, B. R.; DAVIS, E. G.; et al. Characterization of peripheral blood and pulmonary leukocyte function in healthy foals. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, n. 73, v. 3-4, p. 267-285, 2000.

FLAMINIO, M. J. B.; RUSH, B. R.; SHUMAN, W. Peripheral blood lymphocyte subpopulations and immunoglobulin concentrations in healthy foals and foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. *J. Vet. Intern. Med.*, n. 13, v. 3, p. 206-212, 1999.

FOWDEN, A. L.; WARD, J. W.; WOODING, F. P. B.; et al. Programming placental nutrient transport capacity. *Physiol. J.*, v. 572, n. 1, p. 5-15, 2006.

FRAZER G. S.; PERKINS N. R.; EMBERTSON R. M. Normal parturition and evaluation of the mare in dystocia. *Equine Vet. Educ.* v. 11, p. 41-46, 1999.

GARDNER, R. B.; NYDAM, D. V.; LUNA, J. A.; et al. Serum opsonization capacity, phagocytosis, and oxidative burst activity in neonatal foals in the intensive care unit. *J. Vet. Intern. Med.*, n. 21, v. 4, p. 797-805, 2007.

GERSTENBERG, C.; ALLEN, W. R.; STEWART, F. Cell proliferation patterns during development of the equine placenta. *Reproduction*, v. 117, n. 1, p. 143-152, 1999.

GINTHER, O. J. *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects*. 2. Ed. Equiservices: Madison, Wisconsin, 1992. p. 642.

GRÖNDAHL, G.; JOHANNISSON, A.; DEMMERS, S.; WAERN, M. J. Influence of age and plasma treatment on neutrophil phagocytosis and CD18 expression in foals. *Vet. Microbiol.*, n. 65, v. 3, p. 241-254, 1999.

GRÖNDAHL, G.; JOHANNISSON, A.; JENSEN-WAERN, M. Opsonic effect of equine plasma from different donors. *Vet. Microbiol.*, v. 56, p. 227–235, 1997.

HAYASHI, F.; MEANS, T. K.; LUSTER, A. D. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood*, v. 102, v. 7, p. 2660–2669, 2003.

HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K.; et al. Haematology of foals up to one year old. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 4, p. 347-353, 1984.

HURCOMBE, S. D.; TORIBIO, R. E.; SLOVIS, N.; et al. Blood arginine vasopressin, adrenocorticotropin hormone, and cortisol concentrations at admission in septic and critically ill foals and their association with survival. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 22, p. 639–647, 2008.

JEFFCOTT, L. B. Duration of permeability of the intestine to macromolecules in the newly-born foal. *Vet. Record*, v. 88, p. 340-341, 1971.

JEFFCOTT, L. B. Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. *Biol. Rev.*, v. 47, n. 4, p. 439-464, 1972.

JEFFCOTT, L. B. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. *Equine Vet. J.*, n. 6, v. 3, p. 109-115, 1974a.

JEFFCOTT, L. B. The transfer of passive immunity to the foal and its relation to immune status after birth. *J. Reprod. Fertil. / Suppl.*, v. 23, p. 727–733, 1975.

JEFFCOTT, L.B. Studies on passive immunity in the foal. 1. Gamma-globulin and antibody variations associated with the maternal transfer of immunity and the onset of active immunity. *J. Comp. Pathol.*, v. 84, p. 93–101, 1974b.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. Risk category of the foal. In: ___ *Equine Neonatal Medicine and Surgery: Medicine and Surgery*. Elsevier Health Sciences, 2004a, cap. 2, p. 29- 64.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. Routine Management and Clinical Examination. In: ___ *Equine Neonatal Medicine and Surgery: Medicine and Surgery*. Elsevier Health Sciences, 2004b. Cap. 4, p. 75- 94.

- KOTERBA, A. M. Physical Examination. In: KOTERBA A, DRUMMOND W, KOSCH P, editors. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. Cap. 6, p. 71- 83.
- LAVOIE, J. P.; SPENSLEY, M. S.; SMITH, B. P.; et al. Colostral volume and immunoglobulin G and M determinations in mares. *Am. J. Vet. Res.*, v. 50, p. 466–470, 1989a.
- LAVOIE, J. P.; SPENSLEY, M. S.; SMITH, B. P. et al. Absorption of bovine colostral immunoglobulins G and M in newborn foals. *Am. J. Vet. Res.*, v. 50, p. 1598–1603, 1989b.
- LEISER, R.; KAUFMANN, P. Placental structure: in a comparative aspect. *Exp. Clin. Endocrinol.*, v.102, p.122-134, 1994.
- LYNCH, N. J.; DALLAP, B. L.; JOHNSTON, J. K.; et al. Retrospective study of dystocia in mares at a referral hospital. *Equine Vet. J.* v. 39, p. 37-41, 2007.
- MADIGAN, J. E. Method for preventing neonatal septicemia, the leading cause of death in the neonatal foal. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 43., 1997, Phoenix. *Proceedings...* Phoenix: AAPE- Annual Convention, 1997.17-19p.
- MARIELLA, J.; CASTAGNETTI, C.; PROSPERI, A. L. I. C. E.; et al. Cytokine levels in colostrum and in foals' serum pre-and post-suckling. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 185, p. 34-37, 2017.
- MARTIN, B. R.; LARSON, K. A. Immune response of equine fetus to coliphage T2. *Am. J. Vet. Res.*, v. 34, p. 1363–1364, 1973.
- MASON, J. H.; DALLING, T.; GORDON, W. S. Transmission of maternal immunity. *J. Path. Bact.* v. 33, p. 783-797, 1930.
- MATHIAS, S.; ALLEN, W. R.; REZAI, A.; et al. Maternal immunoglobulin on the equine placenta. *Biol. Reprod.*, v. 52, p. 201-207, 1995.
- McGUIRE, T. C.; CRAWFORD, T. B. Passive immunity in the foal: measurement of immunoglobulin classes and specific antibody. *Am. J. Vet. Res.*, v. 10, p. 1299-1303, 1973.
- McGUIRE, T. C.; CRAWFORD, T. B.; HALLOEWLL, A. L.; et al. Failure of colostral immunoglobulin transfer as an explanation for most infections and deaths of neonatal foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 170, p. 1302-1304, 1977.
- McGUIRE, T. C.; POPPIE, M. J.; BANKS, K. L. Hypogammaglobulinemia predisposing to infection in foals. *J. Am. Vet. Medic. Assoc.*, v. 166, n. 1, p. 71-75, 1975

- McKENZIE, H. C. Disorders of Folas. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELTON, C. D. *Equine Internal Medicine*, 4. Ed., Elsevier, St. Louis, 2018. cap. 20, p. 1365-1459.
- MILLAR, B. Understanding the normal neonatal foal. *Veterinary Nursing Journal*, v. 28, n. 11, p. 352-355, 2013.
- MORRESEY, P. R. The Placenta. In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; et al. *Equine Reproduction*, 2. Ed., JohnWiley & Sons Ltd, Oxford, 2011. Cap. 8, p. 84-95.
- MORRIS, D. D.; BRUCE, J.; GAULIN, G.; et al. Evaluation of granulocyte transfusion in healthy neonatal pony foals. *Am. J. Vet. Res.*, v. 48, p. 1187–1193, 1987.
- MOSSMAN, H. W. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Placenta*. v. 12, n. 1, p. 1-5, 1991.
- NGUYEN, T. V.; YUAN, L.; AZEVEDO, M. S. P.; et al. Transfer of maternal cytokines to suckling piglets: in vivo and invitro models with implications for immunomodulation of neonatalimmunity. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, n. 117, p. 236–248, 2007.
- PARADIS, M. R. Update on neonatal septicemia. *Vet. Clin. N. Am.: Equine Pract.*, v. 10, p. 109-135, 1994
- PERKINS, G. A.; WAGNER, B. The development of equine immunity: Current knowledge on immunology in the young horse. *Equine Vet. J.*, n. 47, v. 3, 267-274, 2015.
- PERRYMAN, L. E.; MCGUIRE, T. C.; TORBECK, R. L. Ontogeny of lymphocyte function in the equine fetus. *Am. J. Vet. Res.*, v. 41, p. 1197–1200, 1980.
- PUSTERLA, N.; CONRAD, P. A.; PACKHAM, A. E.; et al. Endogenous transplacental transmission of *Neospora hughesi* in naturally infected horses. *J. Parasitol.*, n. 97, n. 2, p. 281-285, 2011.
- ROOPENIAN, D. C.; AKILESH, S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat. Rev. Immunol.*, v. 7, p. 715-725, 2007.
- SANCHEZ, L. C. Equine neonatal sepsis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 2005v. 21, p. 273–293, 2005
- SMITH, R. 3RD.; CHAFFIN, M. K.; COHEN, N. D.; et al. Age-related changes in lymphocyte subsets of quarter horse foals. *Am. J. Vet. Res.*, v. 63, p. 531–537, 2002.
- STEWART, A. J.; HINCHCLIFF, K. W.; SAVILLE, W. J.; et al. Actinobacillus sp. bacteremia in foals: clinical signs and prognosis. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 16, n. 4, p.464-471, 2002.

- STEVEN, D. H. Placenta Depicta: Illustrations and Ideas. In: STEVEN, D. H. *Comparative Placentation: Essays in Structure and Function*. Academic Press, London, 1975, p. 1–24.
- STONEHAM, S. J. Assessing the Newborn Foals. In: PARADIS, M. R. *Equine Neonatal Medicine: A case-based approach*. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, USA, 2006. Cap. 1, p. 1- 11.
- TALLMADGE, R. L. The immune system of the young horse. In: FELIPPE, M. J. B. *Equine Clinical Immunology*. John Wiley & Sons, Inc., Ames, Iowa, 2016. Cap. 2, p. 11-22.
- TIMENS, W.; KAMPS, W. A. Hemopoiesis in human fetal and embryonic liver. *Microscopy Research and Technique*, v. 39, p. 387-397, 1997.
- TIZARD, I. R. Antibodies. In: ___ *Veterinary Immunology*, 9. Ed., Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 2013. Cap. 16, p. 165-174.
- TIZARD, I. R. Antibodies: Soluble Antigen Receptors. In: ___ *Veterinary Immunology*, 9. Ed., Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 2013a. Cap. 16, p. 166-174.
- TIZARD, I. R. Antigens: Triggers of Adaptive Immunity. In: ___ *Veterinary Immunology* 9. Ed., Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 2013b. Cap. 9, p. 84-90.
- TIZARD, I. R. Immunity in fetus and newborn. In: ___ *Veterinary Immunology* 9. Ed. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 2013c. Cap. 21, p. 225-239.
- TUBOLY, S.; BERNATH, S. Intestinal absorption of colostral lymphoid cells in newborn animals. *Adv. Expt. Med. Biol.* v. 503, p. 107-114, 2002.
- VAN NIEUWENHOVEN, E. J.; LEFERING, R.; NEUGEBAUER, E.; et al. Clinical relevance of sepsis scores. *Langenbecks Arch. Surg.*, v. 383, p. 11–14, 1998.
- WEBER, E. J.; SANCHEZ, L. C.; GIGUERE, S. Re-evaluation of the sepsis score in equine neonates. *Equine Vet. J.*, v. 47, p. 275–278, 2015.
- WICHTEL, M. G.; ANDERSON, K. L.; JOHNSON, T. V.; et al. Influence of age on neutrophil function in foals. *Equine Vet. J.*, v. 23, n. 6, p. 466-469, 1991.
- WILSON, W. D.; MADIGAN, J. E. Comparison of bacteriologic culture of blood and necropsy specimens for determining the cause of foal septicemia: 47 cases (1978–1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 195, p. 1759–1763, 1989.

WOHLFENDER, F. D.; BARRELET, F. E.; DOHERR, M. G.; et al. Diseases in neonatal foals. Part 2: potential risk factors for a higher incidence of infectious diseases during the first 30 days post-partum. *Equine Vet. J.*, v. 41, n. 2, p. 186-191, 2009

WONG, D. M.; RUBY, R. E.; DEMBEK, K. A.; et al. Evaluation of updated sepsis scoring systems and systemic inflammatory response syndrome criteria and their association with sepsis in equine neonates. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 32, n. 3, p. 1185-1193, 2018.

WONG, D.; WILKINS, P. Defining the systemic inflammatory response syndrome in equine neonates. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v. 31, n. 3, p. 463–481, 2015.

WOODING, F. B. P.; FOWDEN, A. L. Nutrient transfer across the equine placenta: correlation of structure and function. *Equine Vet.J.*, v. 38, n. 2, p. 175-183, 2006.

WOODING, P.; BURTON, G. Implantation, Maternofetal Exchange and Vascular Relationships. In: _____. *Comparative Placentation Structures, Functions and Evolution*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008. Cap. 2, p. 47-80.

YOKOTA, T.; HUANG, J.; TAVIAN, M.; et al. Tracing the first waves of lymphopoiesis in mice. *Development*, v. 133, p. 2041- 2051, 2006.

CAPÍTULO II

MAMMARY GLAND SECRETION PH AND ELECTROLYTES IN PREPARTUM MANGALARGA MARCHADOR MARES (ARTIGO PUBLICADO)

Concentrações de pH e eletrólitos na secreção da glândula mamária de éguas Mangalarga Marchador no período pré-parto

Resumo

O objetivo desse estudo foi determinar o pH e as concentrações de Cálcio (Ca^{2+}), Magnésio (Mg^{2+}), Cloro (Cl^-), Sódio (Na^+) e Potássio (K^+) na secreção da glândula mamária de éguas Mangalarga Marchador (MM) no período pré-parto, a fim de determinar o melhor método para prever proximidade do parto na raça. Quarenta e duas éguas MM foram avaliadas diariamente a partir dos 310 dias de gestação até o parto. O pH, aferido pelo pHmetro e fitas reagentes, e os eletrólitos Ca^{2+} , Mg^{2+} e Cl^- apresentaram diferenças significativas em suas concentrações nos últimos 10 dias pré-parto ($p < 0,05$). A diminuição significativa dos valores médios de pH (pHmetro = $6,67 \pm 0,42$; fitas reagentes = $6,23 \pm 0,53$) e o aumento significativo nas concentrações médias de Ca^{2+} ($12,6 \pm 5,8 \text{ mmol/L}$) e Mg^{2+} ($10,93 \pm 3,66 \text{ mmol/L}$) foram observados 24 horas pré-parto ($p < 0,0001$). As concentrações de Cloro diminuíram significativamente 8 dias antes do parto ($p < 0,0001$), porém continuaram sem alteração até o momento da parição. O pH da secreção foi eficaz para prever o momento do parto. Valores quantitativos obtidos através do pHmetro apresentaram maior acurácia em comparação as fitas de pH, porém obteve-se forte correlação entre os dois métodos. Cálcio e magnésio foram os únicos eletrólitos que apresentaram alterações significativas no pré-parto imediato e são indicadores mais precisos de quando não esperar o parto.

Palavras-chave: pHmetro, parto, gestação.

Abstract

The objective of this study was to determine pH and the concentrations of Calcium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}), Chloride (Cl^-), Sodium (Na^+), Potassium (K^+) and Calcium (Ca^{2+}) in the mammary gland secretion in prefoaling Mangalarga Marchador (MM) mares to determine the best method to predict parturition in the breed. Forty-two pregnant MM mares were evaluated once daily from 310 days of gestation until parturition. Mammary gland secretion pH, measured by pH meter and pH paper strip, Mg^{2+} , Ca^{2+} and Cl^- levels significantly changed during the last 10 days prior to parturition ($p < 0.05$). The lowest pH mean value (pH meter = 6.67 ± 0.42 ; pH strip = 6.23 ± 0.53) and significantly higher mean concentrations of Ca^{2+} ($12.6 \pm 5.8 \text{ mmol/L}$) and Mg^{2+} ($10.93 \pm 3.66 \text{ mmol/L}$) were obtained 24 hours prior to foaling ($p < 0.0001$). Chloride levels reduced significantly 8 days prior to parturition ($p < 0.0001$) but remained unchanged until the

due date. Mammary gland pH secretion, measured by pH meter and pH paper strip, was effective to predict parturition. Quantitative pH values obtained with the pH meter had a greater accuracy in comparison to pH paper strips, but a strong correlation was found between both methods. Calcium and magnesium were the only electrolytes that changed in concentration immediately prior to parturition and are better indicators of when not to expect foaling.

Keywords: pH meter, foaling, gestation.

1. INTRODUCTION

To ensure the delivery of healthy foals it is important to attend foaling and intervene in a timely manner if abnormalities are detected (Canisso *et al.*, 2013; Santschi e Vaala, 2011; Bain e Howey, 1975). While most foalings require no intervention, when foaling problems arise, such as a delay in the second stage of labor, the consequences may result in the death of the neonate. Therefore, early interventions may improve mare and foal outcome and decrease economical losses (Christensen, 2011; Rosales *et al.*, 2017; Cheong *et al.*, 2019; Nagel *et al.*, 2020). Several methods to predict parturition in mares have been proposed, with different results. Gestation length is variable among mares (320-365 days) and considered an unreliable method to predict parturition (Ley, 2011). Changes in body conformation and evaluation of mammary gland secretion have been used to predict foaling date (Peaker *et al.*, 1979; Ousey *et al.*, 1984). Physical signs of readiness for parturition, such as udder development, relaxation of tailhead, pelvic ligaments and vulva may be subtle and variable among mares and are not considered reliable methods to predict the day of parturition (Peaker *et al.*, 1979; Korosue *et al.*, 2013). Changes in mammary gland concentrations of magnesium (Mg^{2+}), chloride (Cl^-), sodium (Na^+), potassium (K^+) and calcium (Ca^{2+}) on serial evaluations have been tested with variable results, with the last being the most used (Ley *et al.*, 1993; Canisso *et al.*, 2013; Korosue *et al.*, 2013). Lately, changes in mammary gland secretion pH were described to predict parturition with good results in Thoroughbred (TB) and light horse mares (Canisso *et al.*, 2013; Korosue *et al.*, 2013). Mangalarga Marchador (MM) is the largest Brazilian horse breed. They are well known for their marcha gait and have a significant economic and social impact nationally and now internationally, with the export of horses and embryos to other countries (MAPA, 2016; ABCCMM, 2021). Mammary gland secretion to predict parturition have been evaluated in several breeds (Ley *et al.*, 1993; Canisso *et al.*, 2013; Korosue *et al.*, 2013, Amorim *et al.*, 2019), but to the best of our knowledge there are not studies in MM mares. It has been previously demonstrated that MM mares have different reproductive parameters in comparison

to other breeds, such as reference ranges for the combined utero-placental thickness (Campos *et al.*, 2017), and this might apply for mammary gland secretion as well.

The objective of this study was to determine pH and the concentrations of magnesium, chloride, sodium, potassium, and calcium in the mammary gland secretion in pre foaling Mangalarga Marchador mares to determine the best method to predict parturition in the breed.

2. MATERIAL AND METHODS

This study was approved by the Ethics Committee for the use of animals of the Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG) under the protocol 374/2019.

Forty-two pregnant Mangalarga Marchador mares, with ages between 4 and 15 years old (mean 9.16), were used in the study, from 2020 to 2021. The mares were privately owned by a registered MM farm in the state of Minas Gerais, Brazil. They were kept in paddocks with access to free choice water, hay, and mineral salt during the entire experiment. The mares were evaluated once daily in the evening (from 5 pm to 6 pm), from 310 days of gestation until the day of parturition. The mares foaled from November to February.

All mares were daily inspected for physical changes (relaxation of the tailhead and pelvic ligaments, softening and lengthening of the vulva) and udder development and secretion in the mammary gland. T1 was defined as ≤ 24 horas prior to foaling; T2: 2 days prior to foaling; T3: 3 days prior to foaling; T4: 4 days prior to foaling; T5: 5 days prior to foaling; T6: 6 days prior to foaling; T7: 7 days prior to foaling; T8: 8 days prior to foaling; T9: 9 days prior to foaling; T10: 10 days prior to foaling. All findings were recorded daily in an individual chart. When mammary gland secretion was present, the udder was washed with water and soap, dried with paper towel and between 1 and 2 ml of secretion were collected in a conical tube. Mammary gland secretion pH and water hardness were immediately evaluated. The samples were then frozen at -20°C and stored for further evaluation of electrolyte concentrations.

The pH of the prepartum mammary secretion was analyzed with a portable pH meter with automatic temperature compensation (Kasvi®, Model K39-0014PA, São José dos Pinhais, PR, Brazil) and with a pH indicator paper strip with ranges from 5.5 to 8.0 units with a 0.2 pH incremental interval (Hydrion®, Micro Essential Laboratory, New York, NY, USA) (Canisso *et al.*, 2013). The portable pH meter was calibrated daily prior to its first reading using a buffer solution provided by the manufacturer. The electrode was then placed in the mammary gland secretion and reading was performed as soon as the pH value stabilized. The electrode was

rinsed with distilled water between samples and was submerged in KCl solution at the end of the day, according to the manufacturer recommendation. The pH paper strip was immersed in the mammary gland secretion and immediately removed. Results were immediately interpreted by comparing the observed strip color with the color standard chart provided by the manufacturer.

Water hardness was measured by semi-quantitative estimation of calcium carbonate (CaCO_3) using a commercial paper strip (Aquadur®, Macherey-Nagel GmbH & Co.KG, Düren, NW, Germany) (Ousey *et al.*, 1989). The paper strip was immersed in the mammary gland secretion for 1 second and left in room temperature for 1 minute prior to reading. Results were classified according to a score system provided by the manufacturer with 5 squares, based on changes in color (0 square: $<55\text{ppm}$ of CaCO_3 ; 1 square: $>90\text{ppm}$ of CaCO_3 ; 2 squares: $>180\text{ppm}$ of CaCO_3 ; 3 squares: $>270\text{ppm}$ of CaCO_3 ; 4 squares: $>360\text{ppm}$ of CaCO_3 ; 5 squares: $>445\text{ppm}$ of CaCO_3).

Electrolyte concentrations were analyzed using a chemistry analyzer (Cobas Mira Plus®, Roche Ltd, Basel, Switzerland) (Peaker *et al.*, 1979) and reagents manufactured by Biotécnica® (Varginha, MG, Brazil). Calcium was analyzed by o-cresolphthalein complexone method, magnesium by xylidyl blue method, sodium by β -galactosidase and o-nitrophenol-b-D-galactoside (ONPG) enzymatic method, potassium by pyruvate kinase and phosphoenolpyruvate enzymatic method and chloride by mercury thiocyanate method.

Mares diagnosed with placentitis during the experimental phase or post-partum were excluded from the experiment.

Results of pH and electrolytes were described as mean and standard deviation or absolute and relative frequencies. Pearson correlation was obtained to describe associations between pH measured by pH meter and pH strip and between pH and electrolytes. A Bland-Altman plot was constructed to evaluate the difference in pH measurements with different mean values. Mixed regressions were modeled to evaluate the effect of age, weight, body condition score, gestation length and days to parturition on pH and electrolytes. In the model, animal effect was considered as random to accommodate repeated measures. The best model was chosen by likelihood ratio test. Predictions by the days to parturition were obtained for final models. A logistic regression considering the categorical value foaled or did not foal as response variable was performed as a function of the former prediction. A threshold of 0.5 probability for classification of foaled or did not foal was set to compare with the observed data. ROC curves were constructed, and the best threshold was obtained as the closest top left point. Sensitivity,

specificity, accuracy, negative predictive value, and positive predictive value were calculated for the best threshold and the closest highest and lowest values to visualize changes in classification quality parameters. Evaluations were performed considering less than 24 hours to foal as response variables for classification. R software (R Core Team, 2020) was used for all analyzes.

3. RESULTS

Three mares were diagnosed with placentitis and were excluded from the experiment. One mare did not show udder development and mammary gland secretion and 2 mares did not have enough secretion for the analysis. Therefore, a total of 36 mares were included in the final analysis. Mean gestational length was 333 days \pm 12.88. None of the mares required assistance during parturition and all delivered healthy foals.

Age, weight, body condition score and gestation length did not affect mammary gland secretion pH and electrolytes. Mammary gland secretion pH, Mg^{2+} , Ca^{2+} and Cl^{-} levels significantly changed during the prepartum period (Tab. 1). The pH, determined by pH meter and pH paper strip, significantly decreased as mares approached foaling, with the lowest values detected 24 hours prior to parturition (pH meter= mean of 6.67 ± 0.42 ; pH strip= mean of 6.23 ± 0.53) ($p < 0.0001$) (Fig.1). A strong correlation was found between pH values obtained with the pH meter and pH paper strip ($r = 0.89$) and a moderate to strong negative correlation was found between pH and Mg^{2+} (pH meter: $r = -0.62$; pH strip: $r = -0.69$) and pH and Ca^{2+} (pH meter: $r = -0.71$; pH strip: $r = -0.72$). Although a strong correlation was found between pH values obtained by pH meter and pH paper strip, a higher discrepancy between values was noted when lower pH values were observed (Fig.2).

Table 1. Means and standard deviation (SD) for pH and electrolytes during the last 10 days prior to parturition in the mammary gland secretion of Mangalarga Marchador mares

	pH		Electrolytes mmol/L				
	pH meter	pH strip	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	K ⁺	Na ⁺
T1	6.67±0.42 ^a	6.23±0.53 ^a	12.6±5.8 ^a	10.93±3.66 ^a	96.8±26.25 ^a	17.26±1.88 ^a	69.71±31.36 ^a
T2	6.98±0.45 ^b	6.59±0.59 ^b	8.07±4.14 ^b	7.97±3.0 ^b	86.4±11.7 ^a	18.52±5.31 ^a	70.57±45.74 ^a
T3	7.2±0.37 ^c	6.84±0.54 ^c	4.2±2.77 ^c	7.04±3.14 ^b	88.8±11.89 ^a	17.38±5.94 ^a	81±36.62 ^a
T4	7.3±0.3 ^c	7±0.49 ^c	4.92±3.51 ^c	6.54±2.93 ^b	105.5±44.41 ^a	16.18±3.76 ^a	84.5±36.29 ^a
T5	7.3±0.31 ^c	7.09±0.44 ^c	4.1±3.19 ^c	6.71±3.12 ^b	85.3±8.07 ^a	15.57±4.19 ^a	81.81±34.35 ^a
T6	7.27±0.41 ^c	7.17±0.4 ^d	4.12±3.59 ^c	5.84±3.0 ^b	92.9±11.77 ^a	21.94±28.87 ^a	92.36±34.63 ^a
T7	7.4±0.33 ^c	7.28±0.29 ^d	3.92±3.35 ^c	6.11±2.59 ^b	93.1±11.74 ^a	13.14±4.87 ^a	99.92±39.05 ^a
T8	7.52±0.26 ^c	7.29±0.3 ^d	2.52±1.44 ^c	3.59±1.38 ^b	101±17.29 ^a	13.22±3.49 ^a	97.75±38.55 ^a
T9	7.32±0.2 ^{bc}	7.24±0.23 ^d	2.52±1.94 ^c	5.23±1.87 ^b	161.6±103.35 ^b	11.57±5.32 ^a	89.67±22.48 ^a
T10	7.32±0.18 ^{bc}	7.28±0.19 ^d	2.92±4.07 ^c	3.73±2.59 ^b	160.4±101.88 ^b	10.5±5.8 ^a	101±32.19 ^a

Means with different letters differ from one another within the same column (P<0.05). Mg²⁺= Magnesium, Ca²⁺= Calcium, Cl⁻= Chloride, K⁺= Potassium, Na⁺= Sodium. Time points: T1: ≤ 24horas prior to foaling, T2: 2 days prior to foaling, T3: 3 days prior to foaling, T4:4 days prior to foaling, T5: 5 days prior to foaling, T6: 6 days prior to foaling, T7: 7 days prior to foaling, T8: 8 days prior to foaling, T9: 9 days prior to foaling, T10: 10 days prior to foaling.

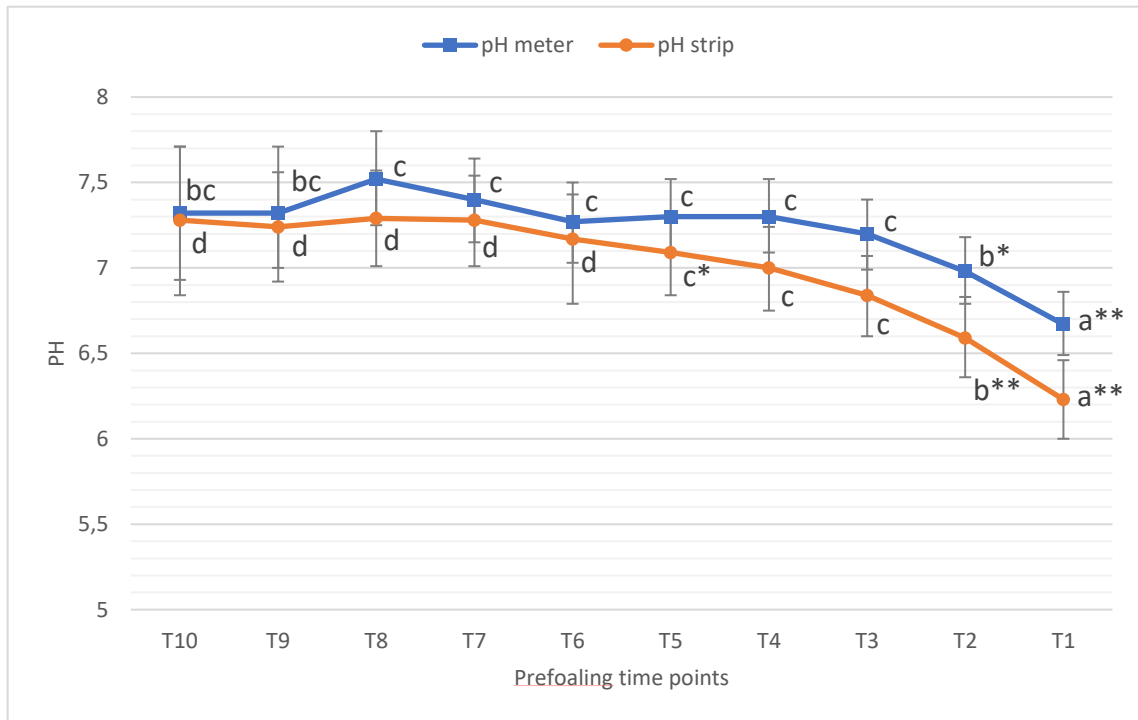


Figura 3- pH mammary gland secretion obtained by pH meter and pH paper strip during the last 10 days prior to parturition in Mangalarga Marchador mares. Different letters represent significant statistical difference between time points within the same method of analysis. Time points: T1: \leq 24horas prior to foaling, T2: 2 days prior to foaling, T3: 3 days prior to foaling, T4:4 days prior to foaling, T5: 5 days prior to foaling, T6: 6 days prior to foaling, T7: 7 days prior to foaling, T8: 8 days prior to foaling, T9: 9 days prior to foaling, T10: 10 days prior to foaling (* $p < 0.05$; ** $p < 0.0001$).

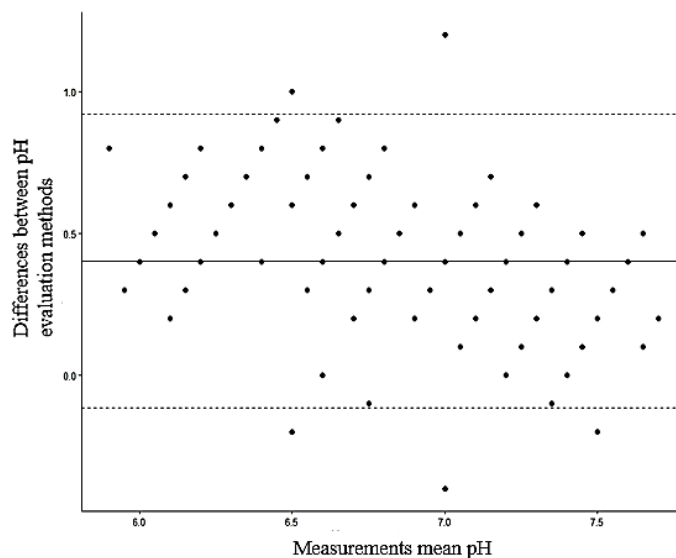


Figure 2. Bland-Altman graphic for pH measurements obtained by pH meter and pH paper strip in the mammary gland secretion of Mangalarga Marchador mares in the last 10 days prior to parturition. A higher discrepancy between values was noted when lower pH values were observed.

Significantly higher concentrations of Ca^{2+} (mean 12.6mmol/L \pm 5.8) and Mg^{2+} (mean 10.93mmol/L \pm 3.66) were obtained 24 hours prior to foaling ($p < 0.0001$) (Fig.3). Chloride levels reduced significantly 8 days prior to parturition ($p < 0.0001$) and remained unchanged until the day of parturition (mean 96.8 mmol/L \pm 26.25, 24 hours pre foaling) (Fig.3). No significant changes in K^+ and Na^+ were observed during the experiment.

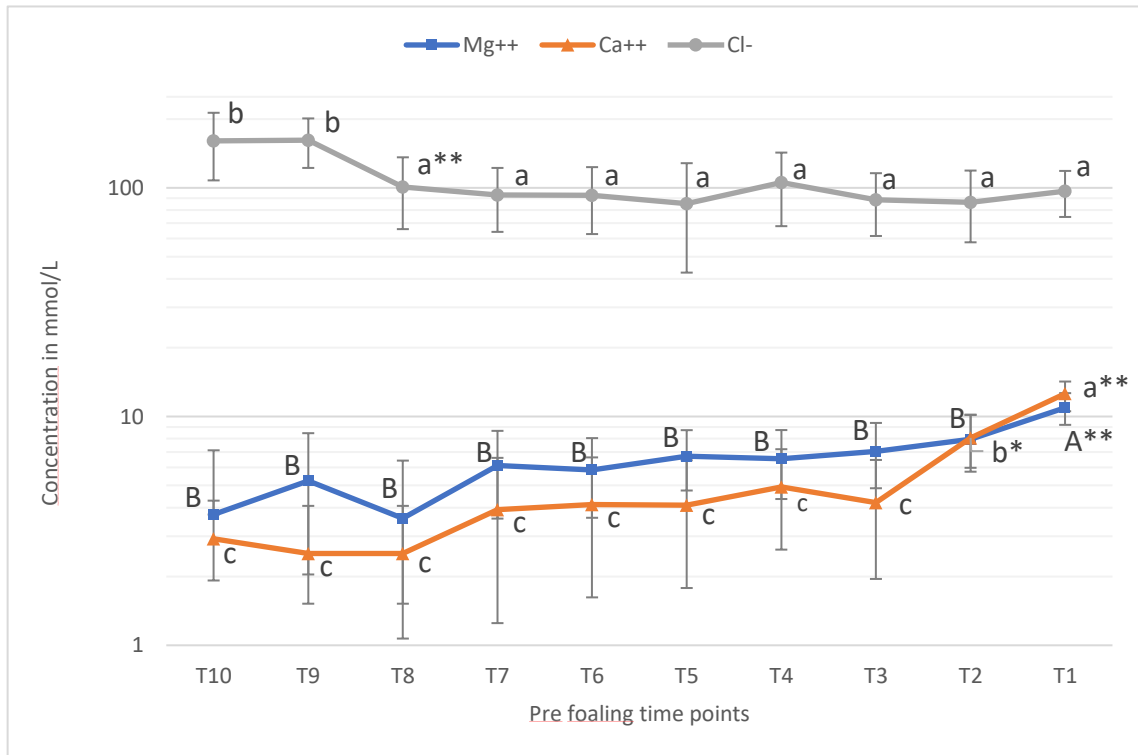


Figure 4- Magnesium, Calcium and Chloride concentrations in the mammary gland secretion of Mangalarga Marchador mares within 10 days prior to foaling. Different letters represent significant statistical difference between time points within the same method of analysis. Mg^{2+} = Magnesium, Ca^{2+} = Calcium, Cl^- = Chloride. Time points: T1: \leq 24 hours prior to foaling, T2: 2 days prior to foaling, T3: 3 days prior to foaling, T4: 4 days prior to foaling, T5: 5 days prior to foaling, T6: 6 days prior to foaling, T7: 7 days prior to foaling, T8: 8 days prior to foaling, T9: 9 days prior to foaling, T10: 10 days prior to foaling (* $p < 0.05$; ** $p < 0.0001$).

The accuracy to predict foaling within 24 hours was 87% after pH decreased to 6.8 with the pH meter and 78% after pH decreased to 6.6 with the pH strip. The optimal predicted threshold for Mg^{2+} and Ca^{2+} were 8.40 mmol/L (accuracy of 87%) and 9.79 mmol/L (accuracy of 94%), respectively. The threshold value with better combination of sensitivity and specificity for each variable analyzed and the calculated positive and negative predict values and accuracy are described in Table 2.

Table 2. Sensitivity, Specificity, Positive Predict Value (PPV), Negative Predict Value (NPV) and Accuracy for pH, Magnesium (Mg^{2+}) and Calcium (Ca^{2+}) in the mammary gland secretion of MM mares 24 hours before parturition, considering different threshold values

VALUES	pH						Electrolytes (mmol/L)	
	pH meter			pH strip			Mg^{2+}	Ca^{2+}
VALUES	6.6	6.8*	7	6.2	6.6*	6.8	8.40*	9.79*
Sensitivity (%)	50	65	90	44	86	94	88	90
Specificity (%)	97	93	72	94	76	63	86	95
PPV (%)	84	70	43	64	84	35	65	81
NPV (%)	89	91	96	89	97	98	96	97
Accuracy (%)	88	87	75	85	78	69	87	94

*Estimated values determined as the closest top left point of the relative operating characteristics curve graphic (ROC).

The water hardness test revealed concentrations > 445 ppm of $CaCO_3$ (5 squares) 24 hours prior to foaling, but no significant difference was observed in the last 4 days preceding parturition ($p > 0.05$). Between 4 and 10 days prior to foaling significant changes in $CaCO_3$ concentration were noted ($p < 0.001$). Mean concentrations above 270 ppm (3 squares) were observed in all experimental time points. The water hardness test had a moderate and negative correlation with pH (pH meter: $r = -0.38$; pH strip: $r = -0.56$) and a moderate and positive correlation with calcium ($r = 0.65$).

All mares showed relaxation of the tailhead and pelvic ligaments, softening and lengthening of the vulva in variable times within the last two weeks prior to parturition.

4. DISCUSSION

Mares with placentitis were excluded from the study since mammary gland electrolytes are considered an unreliable method of screening in this scenario (Rossdale, 1991). Determining mammary gland secretion pH is practical and economically viable and was effective in predicting parturition in MM mares. Quantitative pH values obtained with the pH meter had a greater accuracy in comparison to pH paper strip, but since a strong correlation was found between methods both can be used, and selection should be based on availability and cost. The appropriate optimal predicted threshold varied according to the method of analysis. Measurements performed once daily were effective in predicting parturition in the present study, as previously demonstrated by Canisso *et al.* (2013).

The optimal pH threshold to predict parturition within 24 hours, considering sensitivity and specificity, were 6.8 and 6.6 for the pH meter and pH paper strip, respectively. Those findings

are consistent with previous reports in light horse mares, where a pH <7 predicted foaling within 24 hours (Canisso *et al.*, 2013). Based on findings from the present study, pH values above 6.6 (measured by pH paper strip) have a NPV for foaling within 24 hours of 97% in MM mares. In TB mares, values above 6.4 were previously correlated with a NPV of 99% to predict parturition within 24 hours (Korosue *et al.*, 2013). MM mares showed a fast reduction in pH prior to foaling, similarly to that reported in the literature in mares from other breeds. Contrary to horses, most jennies tend to have a slow drop in pH observed within the last 5 days preceding parturition (Magalhaes *et al.*, 2021).

The mechanism responsible for changes in pH prior to parturition is not completely understood, but appears to involve carbonic anhydrases, that have been previously found in mammary gland secretion and are important to maintain acid-base balance. Carbonic anhydrases catalyse the rapid hydration of CO₂ and dehydration of H₂CO₃ with consequent release of H⁺ (Lindskog e Coleman, 1973; Sly e Hu, 1995, Karhumaa *et al.*, 2001; Kitade *et al.*, 2003). The pH analysis was performed soon after the mammary gland secretion was collected, therefore a possible influence of the room temperature, presence of bacteria and oxygenation in the results were not considered in the present study (Amorim *et al.*, 2017).

A moderate to strong negative correlation between mammary gland secretion pH and the electrolytes Mg²⁺ and Ca²⁺ was observed in the present study and previously demonstrated by Canisso *et al.* 2013. Magnesium and Calcium were the only mammary gland secretion electrolytes that increased significantly during the 24-hour period prior to parturition (Fig.3). The NPV of an individual mare foaling within 24 hours after the magnesium in the mammary gland secretion first reaches 8.40mmol/L was 96% and the PPV was 65%, therefore it is a better predictor of when the mare will not foal than when she will foal. Calcium concentration ≥ 9.79 mmol/L were significantly correlated with foaling within 24 hours in the present study, as previously demonstrated (Peaker *et al.*, 1979; Ousey *et al.*, 1984; Ley *et al.*, 1993). Calcium concentrations above 10mmol/L indicate fetal maturity and readiness to birth and can be used as an indicator for induction of parturition (Leadon *et al.*, 1984; Ousey *et al.*, 1984; Peaker *et al.*, 1989; Sgorbini *et al.*, 2020). According to previous reports, the mammary gland concentration of calcium can reach levels significantly higher than 10 mmol/L and can remain high for a few days prior to parturition (Ousey *et al.*, 1984), which may be a misleading indicator of imminent foaling. In the present study, calcium concentration ≥ 9.79 mmol/L had a specificity of 95% and NPV of 97%, therefore, mammary gland secretion of calcium is also a better predictor of when the mare is not ready to foal than a predictor of the exact moment of

parturition. Mammary gland pH and Ca^{2+} were also reportedly used to guide the timing of augmentation in mares with impending signs of parturition with good results (Cheong *et al.*, 2019). The physiologic process responsible for changes in electrolyte concentration in the mammary gland secretion is unknown and does not seem to be influenced by the concentration of serum calcium and parathyroid hormone (PTH) (Martin *et al.*, 1996), suggesting that hormones involved in parturition and lactation (cortisol and estrogen) might be involved (Martin *et al.*, 1996).

Chloride levels decreased 8 days prior to parturition but did not change significantly during the last week of gestation (Fig.3), therefore were not considered a reliable method to predict parturition in the present study. A decrease in mammary gland secretion of chloride was observed immediately pre foaling in light horse mares (Canisso *et al.*, 2013) and TB mares (Peaker *et al.*, 1979), although not all light horse mares demonstrated a reduction in chloride levels prior to foaling (Canisso *et al.*, 2013).

Although a significant decrease in sodium and a significant increase in potassium levels were previously reported, they were not observed during the prepartum period and were not considered good indicators of foaling in the present study. A Na^+/K^+ ratio inversion has been previously demonstrated in prepartum mares (Ley, 2011; Canisso *et al.* 2013), but was not detected in the MM mares from this study. Light horses mares and TB mares have also previously failed to demonstrate a Na^+/K^+ ratio inversion prior to parturition (Ousey *et al.* (1984) and Canisso *et al.* (2013).

Although a moderate correlation was found between the water hardness test and mammary gland secretion pH and calcium, this is not a useful test to predict parturition in MM mares since values did not change significantly within the last four days prior to foaling. The maximum scale detected by the water hardness kit is $>445\text{ppm}$ of CaCO_3 , therefore the exact maximum concentration could not be precisely determined and might have interfered with our ability to detect significant changes. A previous study in Standardbred mares showed that concentrations $>225\text{ppm}$ of CaCO_3 should be used as threshold to start closely monitoring the mares for foaling (Amorim *et al.*, 2019). In our study CaCO_3 concentrations $>270\text{ppm}$ were detected in all time points, confirming that this was not a good predictor of foaling in MM mares. The water harness test can be influenced by other electrolytes, such as magnesium (Cash *et al.*, 1985), which explains why higher concentrations were observed prior to an increase in the concentration of calcium was detected in the biochemical analysis.

Although changes in body conformation were visualized within the last 2 weeks prior to parturition, the exact day of appearance varied from mare to mare and therefore were not considered a reliable method to predict the exact day of foaling (Brinsko *et al.*, 2011). Mammary gland usually develops in the last weeks of gestation due to growing of the parenchyma and the presence of colostrum (Peaker *et al.*, 1979). The prepartum maturation of the mammary gland involves an increase in blood flow and changes in the overall volume and composition of the secretion and is associated with a rise in estrogen and a fall in progesterone levels (Purohit, 2010). One mare in the present study did not show udder development prior to parturition and 2 mares did not have enough mammary gland secretion despite having developed their udder. It has been previously demonstrated that nulliparous mares might develop the udder and have a physiologic stimulus for production of mammary gland secretion only a few hours prior to parturition, which might explain our findings (Peaker *et al.*, 1979; Starbuck, 2006; Espy, 2016).

5. CONCLUSION

Mammary gland pH secretion measured by pH meter and pH paper strip was effective to predict parturition in MM mares, inexpensive and provided immediate results. Quantitative pH values obtained with the pH meter had greater accuracy in comparison to pH paper strip, but a strong correlation was found between both methods. Calcium and magnesium were the only mammary gland secretion electrolytes that changed in concentration immediately prior to parturition but are not very practical to analyze in the field and are better indicators of when not to expect foaling rather than a predictor of when mares will foal. The concentrations of Na⁺, K⁺, Cl⁻, Na⁺/K⁺ ratio inversion and water hardness were not good predictors of foaling in MM mares.

6. ACKNOWLEDGMENT

The doctorate scholarship was financed by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq/Brasil.

7. REFERENCES

ABCCMM. *Criação e Mercado do cavalo Mangalarga Machador*. Disponível em: <<http://www.abccmm.org.br/leitura?id=9057>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

AMORIM, G.; CANISSO, I. F.; ELLERBROCK, R. E. et al. pH from mammary gland secretions is acidic at the time of parturition but remains neutral during the first week postpartum in mares. In: *Clinical Theriogenology*, 9, 2017, USA. *Proceedings...* USA: 9, 2017, p. 411.

AMORIM, M. D.; MONTANHOLI, Y.; MORRISON, M. et al. Comparison of Foaling Prediction Technologies in Periparturient Standardbred Mares. *J Equine Vet Sci*, v. 77, p. 86-92, 2019.

BAIN, A. M.; HOWEY, W. P. Observations on time of foaling in Thoroughbred mares in Australia. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v. 23, p. 545-557, 1975.

BRINSKO, S. P.; BLANCHARD, T. L.; VARNER, D. D. et al. Management of the pregnant mare. In: ____ *Manual of Equine Reproduction*, 3^a eds. Mosby Elsevier, Maryland Heights, Missouri, 2011. cap. 9, p. 114-130.

CAMPOS, I. S.; DE SOUZA, G. N.; PINNA, A. E.; FERREIRA, A. M. Transrectal ultrasonography for measuring of combined utero-placental thickness in pregnant Mangalarga Marchador mares. *Theriogenology*, v. 96, p. 142-144, 2017.

CANISSO, I. F.; BALL, B. A.; TROEDSSON, M. H.; SILVA, E. S. M.; DAVOLLI, G. M. Decreasing pH of mammary gland secretions is associated with parturition and is correlated with electrolyte concentrations in prefoaling mares. *Vet. Rec.*, v. 173, n. 9, p. 218-218, 2013.

CASH, R. S. G.; OUSEY, J. C.; ROSSDALE, P. D. Rapid strip test method to assist management of foaling mares. *Equine Vet. J.*, v. 17, n. 1, p. 61-62, 1985.

CHEONG, S. H.; HERRERA, J. M. C.; DOCKWEILER, J. C.; et al. Efficacy and outcome of foaling augmented with oxytocin using mammary calcium and pH criteria to guide the timing of augmentation. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 202, p. 87-95, 2019.

CHRISTENSEN, B. W. Parturition. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. *Equine Reproduction*. 2^a Eds. Philadelphia, USA: Willey Blackwell, 2011. cap. 233, p. 2268-2276.

ESPY, B. Lactation in the Mare, 2016. Disponível em: <<https://aaep.org/horsehealth/lactation-mare>>. Acessado em: 03 jun. 2021.

KARHUMAA, P.; LEINONEN, J.; PARKKILA, S. et al. The identification of secreted carbonic anhydrase VI as a constitutive glycoprotein of human and rat milk. In: National Academy of Sciences, 98, 2001, USA. *Proceedings...* USA: 20, 2001, p. 11604-11608.

KITADE, K.; NISHITA, T.; MITSUGU, Y. et al. Expression and localization of carbonic anhydrase in bovine mammary gland and secretion in milk. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, v. 134, p. 349–354, 2003.

KOROSUE, K.; MURASE, H.; SATO, F. et al. Comparison of pH and refractometry index with calcium concentrations in preparturient mammary gland secretions of mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 242, n. 2, p. 242-248, 2013.

LEADON, D. P.; JEFFCOTT, L. B.; ROSSDALE, P. D. Mammary secretions in normal spontaneous and induced premature parturition in the mare. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 4, p. 256-259, 1984.

LEY, W. B. Pre-foaling mammary gland secretions. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. *Equine Reproduction*. 2ª Eds. Philadelphia, USA: Willey Blackwell, 2011. cap. 286, p. 2733–2737.

LEY, W. B.; BOWEN, J. M.; PURSWELL, B. J. et al. The sensitivity, specificity and predictive value of measuring calcium carbonate in mares' prepartum mammary secretions. *Theriogenology*, v. 40, n. 1, p. 189-198, 1993.

LINDSKOG, S.; COLEMAN, J. E. The catalytic mechanism of carbonic anhydrase. In: National Academy of Sciences, 70, 1973, USA. *Proceedings...* USA: 9, 1973, p. 2505-2508.

MAGALHAES, H. B.; CANUTO, L. E.; CANISSO, I. F. Electrolytes and pH of mammary gland secretions assessments to detect impending parturition and associations with placental and neonate features in donkeys. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 102, p. 103636, 2021.

MARTIN, K. L.; HOFFMAN, R. M.; KRONFELD, D. S. et al. Calcium decreases and parathyroid hormone increases in serum of periparturient mares. *J. Anim. Sci.*, v. 74, n. 4, p. 834-839, 1996.

MISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. Assessoria de comunicação e eventos, Brasília, DF, 2016. 56 p.

NAGEL, C.; AURICH, J.; AURICH, C. Prediction of the onset of parturition in horses and cattle. *Theriogenology*, v. 150, p. 308-312, 2020.

OUSEY, J. C.; DUDAN, F.; ROSSDALE, P. D. Preliminary studies of mammary secretions in the mare to assess foetal readiness for birth. *Equine Vet. J.*, v. 16, p. 259–263, 1984.

PEAKER, M.; ROSSDALE, P. D.; FORSYTH, I. A.; FALK, M. Changes in mammary development and the composition of secretion during late pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v. 27, p. 555-561, 1979.

PUROHIT, G. Parturition in Domestic Animals: A Review. *WebmedCentral Reproduction*, v. 1, p. 10, 2010.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria, 2020. Available at: < <https://www.R-project.org/>>.

ROSALES, C.; KREKELER, N.; TENNENT-BROWN, B. et al. Periparturient characteristics of mares and their foals on a New Zealand Thoroughbred stud farm. *N. Z. Vet. J.*, v. 65, p. 24–9, 2017.

ROSSDALE, P. D.; OUSEY, J. C.; COTTRILL, C. M. et al. Effects of placental pathology on maternal plasma progestagen and mammary secretion calcium concentrations and on neonatal adreno-cortical function in the horse. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v. 44, p. 579–590, 1991.

SANTSCHI, E. M.; VAALA, W. R. Identification of the high-risk pregnancy. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. *Equine Reproduction*. 2^a Eds. Philadelphia, USA: Willey Blackwell, 2011. cap. 1, p. 5–15.

SGORBINI, M.; FRECCERO, F.; CASTAGNETTI, C. et al. Peripartum findings and blood gas analysis in newborn foals born after spontaneous or induced parturition. *Theriogenology*, v. 158, p. 18-23, 2020.

SLY, W. S.; HU, P. Y. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies. *Annu. Rev. Biochem.*, v. 64, n. 1, p. 375-401, 1995.

STARBUCK, G. R. Physiology of lactation in the mare. *European Association for Animal Production*, v. 120, p. 49, 2006.

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS CLÍNICOS, COMPORTAMENTAIS E VIABILIDADE NEONATAL PARA POTROS MANGALARGA MARCHADOR NA PRIMEIRA SEMANA DE VIDA

Resumo

As primeiras semanas de vida do neonato equino constituem um intervalo de maior risco de mortalidade e diversas afecções são exclusivas desta fase. Avaliações de viabilidade neonatal e exames clínicos sequenciais possibilitam a identificação precoce de enfermidades neonatais. O objetivo desse trabalho é individualizar as características de viabilidade neonatal e parâmetros clínicos durante a primeira semana de vida de neonatos da raça Mangalarga Marchador. Foram avaliados os parâmetros comportamentais ao nascimento e parâmetros do exame físico de 36 neonatos Mangalarga Marchador durante a primeira semana de vida. Foram analisados os efeitos dos grupos, do tempo e da interação de forma global (overall) e calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada tratamento e para cada tempo. Animais saudáveis ao nascimento apresentaram maior peso ao nascimento ($32,24 \pm 3,85$ Kg) quando comparado aos animais com alterações clínicas e/ou comportamentais ($27,80 \pm 4,89$ Kg). Os potros sadios também apresentaram correlação positiva entre peso da placenta e peso do potro ($r=0,56$, $p=0,031$), com peso da placenta equivalendo a $10,49 \pm 1,03\%$ do peso do recém-nascido. Nos animais com alterações clínicas, a placenta pesou o equivalente a $12,51\%$ em relação ao peso do potro e não houve correlação entre peso placenta/potro ($p>0,05$). Nos animais saudáveis observaram-se os tempos médios (minutos) para assumir postura esternal ($10,76 \pm 2,77$), estação ($26,07 \pm 7,96$), primeira mamada ($47,23 \pm 10,47$) e eliminação do mecônio ($59,0 \pm 12,97$). Todos os tempos encontraram-se dentro de parâmetros normais descritos para a espécie. Os animais saudáveis apresentaram ganho de peso diário significativo ($p<0,05$), com média de $1,41$ Kg/dia. A temperatura apresentou valores médios estáveis a partir das 12 horas de vida ($p>0,05$), intervalo dentro do esperado para a faixa etária. A frequência cardíaca e respiratória apresentou menor média na avaliação com 7 dias de vida ($p<0,05$), contudo os valores médios ao longo da primeira semana diferem de animais de outras raças no mesmo período de vida. Os dados obtidos auxiliam nos protocolos de avaliação e identificação de neonatos da raça Mangalarga Marchador com alterações, bem como refletem características da raça, adaptação pós-natal e influência ambiental e de manejo.

Palavras-chave: Potros. Exame. Nascimentos.

Abstrat

The first weeks of life of the equine neonate are characterized by a higher mortality risk and predisposition to diseases that are exclusive to this period. Neonatal viability assessments and sequential clinical examinations enable early identification of neonatal illnesses. The aim of this study is to determine the characteristics of neonatal viability and clinical parameters during the first week of life of Mangalarga Marchador neonatal foals. Behavioral and physical exam parameters of 36 Mangalarga Marchador neonates during the first week of life were evaluated. The effects of groups, time and interaction were analyzed globally (overall) and mean values and their respective 95% confidence intervals were calculated for each treatment and for each time. Healthy animals had higher birth weight (32.24 ± 3.85 kg) when compared to animals with clinical and/or behavioral changes (27.80 ± 4.89 kg). Healthy foals also showed a positive correlation between placental weight and foal weight ($r=0.56$, $p=0.031$), with placental weight equivalent to $10.49 \pm 1.03\%$ of the newborn's weight. The placenta weighed the equivalent of 12.51% of the foal's weight and no correlation between placenta/foal weight ($p>0.05$) was observed in unhealthy foals. The mean time (minutes) for healthy foals to assume sternal position (10.76 ± 2.77), to stand (26.07 ± 7.96), first feeding (47.23 ± 10.47) and elimination of meconium (59.0 ± 12.97) were within normal parameters described for the species. Healthy animals showed significant daily weight gain ($p<0.05$), with an average of 1.41 kg/day. Body temperature stabilized when foals were 12 hours old ($p>0.05$). Heart and respiratory rates showed the lowest mean values when foals were 7 days old ($p<0.05$). Heart and respiratory rate parameters were different from what have been described for other breeds during the same period of life. These findings will help in the identification of sick newborn Mangalarga Marchador foals as they are specific for the breed. The postnatal adaptation period, the environment and management of the foals could also influence those parameters.

Keywords: Foals. Exam. Births.

1. INTRODUÇÃO

A transição para vida extrauterina é um dos maiores desafios encontrados pelos neonatos. Este período, também chamado de período adaptativo, é um estágio crítico para adequação de diversos órgãos e sistemas. Nesse tempo, os neonatos são metabolicamente instáveis e susceptíveis a um grande número de doenças congênitas e adquiridas que podem comprometer sua saúde e sobrevivência (Bazzano et al., 2014).

As primeiras semanas do neonato equino constituem um intervalo de maior risco de mortalidade e diversas enfermidades são exclusivas desta fase. O período neonatal compreende uma idade de maior vulnerabilidade para estes animais, porém muitos sinais de doenças são sutis e semelhantes até que o processo esteja relativamente avançado (Stonneham, 2011). Dentre as principais afecções que culminam em maior mortalidade neonatal equina destacam-se as cardiovasculares, pulmonares, metabólicas e anormalidades termorregulatórias. O conhecimento dos mecanismos adaptativos e comportamentais, bem como o desenvolvimento

do neonato, permitem a rápida identificação de sinais clínicos relacionado às afecções neonatais (Austin, 2013; Barr, 2007).

Avaliações de viabilidade neonatal e exames clínicos sequenciais possibilitam identificar afecções relacionadas a gestação, parto ou período pós-natal, bem como o reconhecimento de imaturidades e anormalidades congênitas (Barr, 2007). A adoção de avaliações rotineiras, logo após o nascimento, propicia diagnósticos precoces, orientação terapêutica e maior chance de sobrevivência do recém-nascido (Cruz et al., 2015).

Como característica das raças equinas, há diferentes habilidades, aptidões e níveis de resistência, que estão diretamente relacionados com o padrão de viabilidade e desenvolvimento desses animais (Hunka et al., 2014). Estudos relacionados a fisiologia e evolução clínica no período neonatal auxiliam na compreensão do neonato e contribuem para a caracterização da raça. Considerando a escassez de informações sobre parâmetros clínicos neonatais para a raça Mangalarga Marchador, o objetivo desse trabalho é individualizar as características de viabilidade neonatal e parâmetros clínicos e comportamentais durante a primeira semana de vida de neonatos da raça.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Seleção dos Animais

Foram avaliados 36 neonatos da raça Mangalarga Marchador imediatamente após nascimento e acompanhados durante a primeira semana de vida. Os nascimentos ocorreram durante a temporada de reprodução 2020 e 2021 (novembro a fevereiro). Os animais são provenientes de haras registrado na Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Mangalarga Marchador (ABCCMM), no município de Curvelo, Minas Gerais, Brasil, latitude S18°44'37" longitude O44°26'48". A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA/UFMG (protocolo 374/2019).

Durante a gestação, as éguas foram mantidas em piquete maternidade com disponibilidade de volumoso, água e sal mineral. No último mês de gestação foram avaliadas quanto ao desenvolvimento de características que indicam proximidade de parto. Realizou-se exames diários (5-6pm) da glândula mamária, incluindo o nível de desenvolvimento, presença de secreção, além de pH e eletrólitos (Cálcio e Magnésio) da secreção (Kasvi®, Model K39-0014PA, São José dos Pinhais/PR, Brazil) (Lima et al., 2022). Com a identificação de acúmulo de secreção na glândula mamária, pH da secreção <7, cálcio >9,79mmol/L e magnésio >8,40mmol/L, as éguas passaram a ser monitoradas constantemente. Durante o

acompanhamento, a idade, peso e tempo gestacional foram registrados. O peso corporal foi estimado utilizando fita de pesagem para equinos (Ortovet, São Paulo/SP, Brasil) (Souza et al., 2017).

Todos os partos foram monitorados para assegurar que não houve intercorrências que poderiam gerar alterações clínicas nos neonatos. Foram considerados normais os partos eutócicos sem necessidade de indução, com segundo estágio menor que 20 minutos, ruptura natural do cordão umbilical e ausência de alterações macroscópicas na placenta (Koterba, 1990). Os neonatos foram examinados imediatamente após o nascimento, seguido de avaliações seriadas nos tempos 12, 24, 48, 72 horas e sete dias de vida. Logo após o nascimento, os animais foram avaliados quanto ao comportamento e interação materna, incluindo tempo para ficar em posição esternal, presença do reflexo de sucção, tempo para ficar em estação e primeira mamada (Curcio e Nogueira, 2012; Koterba, 1990). Realizou-se exame físico diário nos potros, com avaliação dos seguintes parâmetros clínicos: inspeção geral, coloração de mucosas, tempo de perfusão capilar (TPC), temperatura (°C), frequência cardíaca (bpm), frequência respiratória (mpm) e peso (Kg), além da avaliação específica dos sistemas cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, neurológico, musculoesquelético e urogenital (Koterba, 1990). O peso do neonato e da placenta (corioalantoide, âmnio e cordão umbilical) foram determinados por meio de balança portátil digital (Bromerschenkel et al., 2018).

Além do exame físico, hemograma e perfil bioquímico (ureia, creatinina, proteínas séricas, GGT, AST, Bilirrubina, Glicose, Lactato, Fibrinogênio e IgG) foram realizados durante as avaliações seriadas para assegurar ausência de doenças clínicas. Somente potros sem sinais de alterações comportamentais no exame físico e sem alterações laboratoriais foram incluídos para determinação dos parâmetros normais avaliados. Animais com alterações comportamentais e/ou clínicas, do nascimento ao final da primeira semana de vida, foram isolados para tratamento clínico específico e realização de hemocultura. Estes animais foram avaliados utilizando-se os escores de SIRS e sepse.

2.2 Análise estatística

Para testar as diferenças entre grupos, levando-se em consideração o tempo, foram ajustados modelos de equações de estimativas generalizadas para cada variável resposta (Guimarães & Hirakata, 2012). Foi utilizada uma estrutura de autocorrelação temporal de simetria composta. Escolheram-se as distribuições de probabilidade apropriadas para cada variável resposta. Após o ajuste do modelo, testaram-se os efeitos dos grupos, do tempo e da interação de forma global (overall) e calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança

para cada tratamento para cada tempo. Para as comparações múltiplas utilizou-se o teste de Tukey.

3. RESULTADOS

Durante o período de acompanhamento, foram avaliados 36 nascimentos, dos quais 28 neonatos (16 machos e 12 fêmeas) foram provenientes de parto eutócico espontâneo e não apresentaram alterações clínicas durante o período de análise. Os demais animais apresentaram alterações clínicas e/ou comportamentais, como hipotonia ao nascimento, dificuldade de assumir postura em estação e baixa afinidade com a mãe (5 animais), além de diarreia com característica infecciosa (3 animais).

Para os animais considerados saudáveis, o tempo gestacional médio foi de 337 ± 12 dias. A idade e peso médio das éguas foram de $9,5 \pm 3,2$ anos e $427,68 \pm 40,30$ Kg, respectivamente. Nos animais com alterações clínicas e/ou comportamentais, o tempo médio gestacional foi menor (326 ± 13 dias) e estatisticamente diferente dos animais saudáveis ($p \leq 0,05$). A idade das éguas não interferiu no tempo de gestação ($p > 0,05$).

Os neonatos saudáveis apresentaram peso médio ao nascimento de $32,24 \pm 3,85$ Kg, correspondendo a $7,53 \pm 1,20\%$ do peso da égua. A placenta pesou em média $3,384 \pm 0,61$ Kg, equivalente a $10,49 \pm 1,03\%$ do peso do recém-nascido. O peso da placenta e potro apresentaram correlação positiva moderada ($r = 0,56$, $p = 0,031$), contudo não houve relação significativa entre a proporção de peso da égua e potro ($p > 0,05$). Os animais com alterações clínicas e/ou comportamentais apresentaram peso médio ao nascimento de $27,80 \pm 4,89$ Kg e placenta com média de peso de $3,48 \pm 1,21$ Kg, estabelecendo proporção de $12,51\%$ em relação ao peso do potro/placenta. No entanto, diferente dos animais saudáveis, não houve correlação entre peso placenta/potro ($p > 0,05$).

Os tempos médios e desvio padrão (média \pm SD) para os neonatos saudáveis e animais com alterações clínicas/ comportamentais assumirem postura em decúbito esternal, estação, primeira mamada e eliminação do mecônio estão expressos na Tabela 3. O reflexo de sucção esteve presente nos primeiros 15 minutos após o nascimento em todos os animais saudáveis. Em todos os partos a ruptura do cordão umbilical ocorreu de forma natural.

Tabela 3: Tempo médio (minutos) e desvio padrão ($\bar{x} \pm SD$) para características comportamentais de neonatos Mangalarga Marchador monitorados após o nascimento

	Esternal	Estação	Primeira mamada	Eliminação Mecônio
Animais saudáveis	10,76 ± 2,77 ^a	26,07 ± 7,96 ^b	47,23 ± 10,47 ^b	59,0 ± 12,97 ^a
Animais com alterações	18,33 ± 20,41 ^a	51,66 ± 13,29 ^a	>120 ^a	290 ± 121,24 ^a

Letras diferentes representam diferença estatística entre os tempos ($p < 0,05$).

Os parâmetros peso, temperatura, frequência cardíaca e respiratória referentes aos animais considerados saudáveis, avaliados ao longo da primeira semana de vida estão expressos na Figura 5. O peso apresentou aumento significativo em todos os tempos de coleta ($p < 0,001$), com 30,6% de ganho de peso ao final da primeira semana de vida (média de 42,11Kg), equivalente ao ganho médio de 1,41Kg/dia. A temperatura apresentou menor média logo após o nascimento (37,83°C), na sequência houve aumento significativo até a avaliação com 24 horas de vida ($p < 0,05$), quando atingiu valor médio de 38,84 °C. Coletas a partir das 24 horas de vida não demonstraram diferença estatística quando comparadas com os tempos 12 e 24 horas de vida ($p > 0,05$).

A frequência respiratória se manteve com pequena variação média durante o período avaliado, apresentando maior média com 24 horas de vida (81mpm) e diferença estatística apenas para a última coleta (68mpm) ($p < 0,05$). A frequência cardíaca apresentou maior média na primeira coleta (132bpm), seguida de diminuição média gradativa. A menor média foi obtida na avaliação com sete dias de vida (113bpm), quando se identificou diferença estatística comparando-se com as duas primeiras coletas ($p < 0,05$). Em todas as avaliações o TPC esteve com intervalo de 1-2 segundos e as mucosas apresentaram coloração rósea e característica úmida.

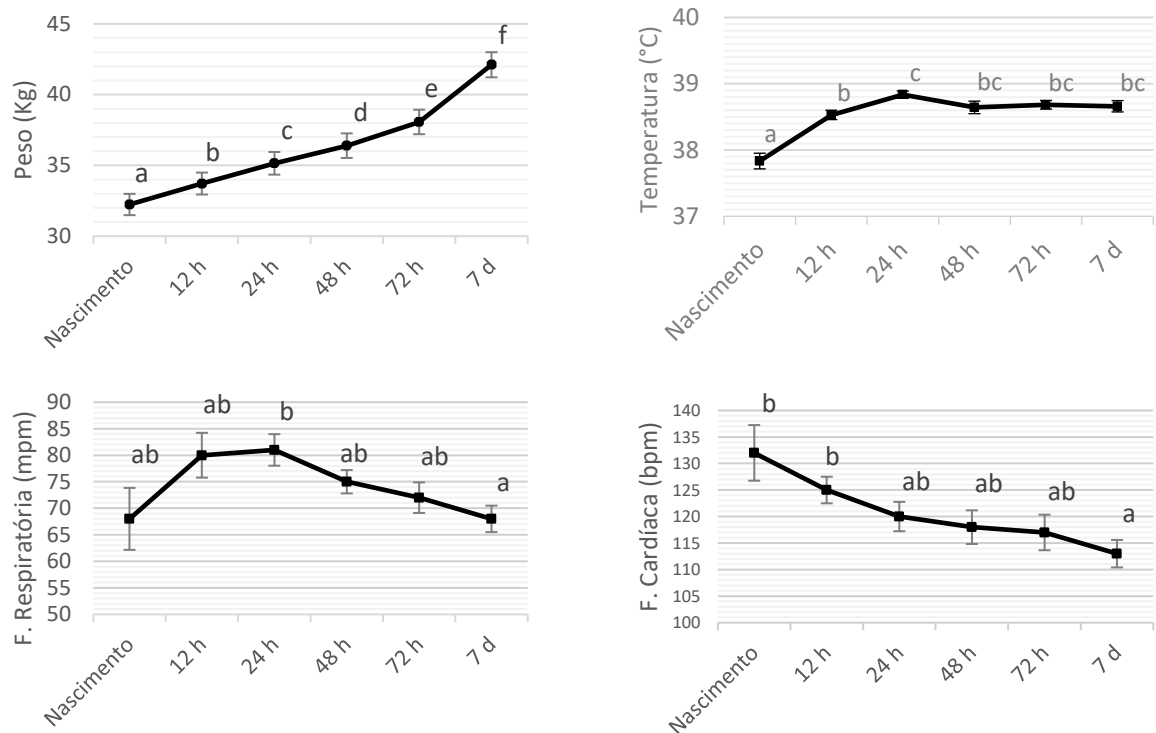


Figura 5: Parâmetros físicos dos animais considerados saudáveis durante a primeira semana de vida. Os gráficos representam os valores médios \pm EP (erro padrão) para variáveis peso (Kg) (superior esquerdo), temperatura ($^{\circ}$ C) (superior direito), frequência respiratória (mpm) (inferior esquerdo) e frequência cardíaca (bpm) durante a primeira semana de vida de neonatos Mangalarga Marchador. Abreviações: Kg, quilogramas; $^{\circ}$ C, graus Celsius; bpm, batimentos por minutos; mpm, movimentos respiratórios por minutos; h, horas de vida; d, dias de vida. Letras diferentes representam diferença estatística entre os tempos ($p < 0,05$).

Os animais que apresentaram hipotonia ao nascimento demoraram mais de 2 horas para assumir postura em estação e precisaram de assistência para levantar e mamar. Dentre esses animais, um apresentou escore positivo para SIRS e sepse e outro apresentou escore positivo para SIRS. Em ambos os casos foram identificadas alterações macroscópicas placentárias, caracterizadas por áreas de espessamento, edema e alterações de coloração. As culturas sanguíneas foram negativas em todos os animais considerados não saudáveis. Os animais que apresentaram alterações ao nascimento e/ou durante o período analisado não foram incluídos nas análises estatísticas para determinação dos parâmetros físicos durante a primeira semana de vida.

4. DISCUSSÃO

Este é o primeiro trabalho que avalia parâmetros físicos de neonatos Mangalarga Marchador durante a primeira semana de vida. Diversos parâmetros analisados apresentaram diferenças quando comparados com descrições anteriores para raças americanas, o que pode ser atribuído a características da raça, localização geográfica e manejo instituído (Bazzano et al., 2014).

O tempo gestacional médio foi similar a descrições gerais para a espécie e tem importância na determinação de viabilidade fetal. O tempo médio de gestação dos animais saudáveis no presente estudo corrobora com achados anteriores para a mesma raça (Matta, 2013; Oliveira, 1992). As diferentes médias no tempo gestacional entre os animais saudáveis e os com alteração destacam a importância da avaliação do tempo gestacional e sua aplicabilidade na avaliação neonatal. O tempo gestacional sofre influência de fatores maternos, ambientais e fetais, que contribuirão no período necessário para a maturidade fetal. Com isso, o conhecimento das características da raça, ambiente, manejo e genética devem ser considerados para determinar o tempo esperado da gestação, bem como auxiliar na definição de prematuros e dismaturos (da Silva et al., 2021).

Os animais sem alterações clínicas apresentaram peso médio ao nascimento de 32,24Kg, equivalente a 7,53% do peso da égua, o que foi similar a dados publicados para a mesma raça por Almeida et al (2000) e Dias et al, (2017), com 8,2% (34,6 Kg) e 8% (32,3 Kg) respectivamente. No presente estudo não houve diferença entre o peso médio ao nascimento de machos ($33,24 \pm 0,91$ Kg) e fêmeas ($30,84 \pm 1,24$ Kg) ($p > 0,05$). Embora a relação peso potro/progenitora seja inferior a descrição convencionalmente utilizada em equinos, que varia entre 9,7-11% do peso da mãe (Dias et al., 2017), os animais do presente estudo não apresentaram características de prematuridade ou dismaturidade. Este resultado representa a variação normal para animais de raça leve. O peso ao nascimento pode ser influenciado por fatores maternos, como idade, número de partos e tamanho da égua, fatores nutricionais e desenvolvimento e estrutura placentária (Allen et al., 2004; Allen et al., 2002). Os animais com alterações clínicas e/ou comportamentais apresentaram peso médio de $27,80 \pm 1,68$ Kg, diferindo dos animais saudáveis ($p = 0,016$). Nesses animais, o provável fator influenciador do menor peso está relacionado ao desenvolvimento fetal e alterações na estrutura placentária. O baixo peso ao nascimento é uma característica de imaturidade e está associado com atraso para ficar em estação, amamentar e eliminar mecônio, bem como maior prevalência de doenças no primeiro mês (Rossdale et al., 1984).

Embora o peso médio do recém-nascido e a proporção relacionada ao peso materno seja similar a dados anteriores, o ganho de peso médio na primeira semana (1,41Kg/dia) foi superior a publicações prévias para a raça (Dias et al., 2017; Santos et al., 2005). A avaliação do ganho de peso ao longo dos dias e/ou semanas permite identificar processos catabólicos e inapetência correlacionados com doenças ainda em processos sutis (Morresey, 2005). O peso médio ao nascimento inferior a raças, como Quarto de Milha e Puro Sangue Inglês, ressalta a importância

do conhecimento das características de peso da raça MM e suas implicações zootécnicas e clínicas (Siqueira et al., 2018; Hunka et al., 2014; Elliott et al., 2009).

A correlação positiva entre peso do neonato e placenta, corrobora com descrição de Allen e colaboradores (2002), no qual o peso da placenta foi associado com tamanho do potro ao nascimento. Como a superfície de área da placenta tem relação com trocas de nutrientes entre feto e mãe, é esperado que o maior contato materno/fetal por meio da interface placentária apresente correlação positiva com o crescimento fetal e peso ao nascimento (Wilsher e Allen, 2003; Allen et al., 2002). A proporção de peso da placenta/potro para os animais com alterações clínicas (12,51%) foi maior que os neonatos MM saudáveis (10,49%) e maior que descrições para as raças PSI e Quarto de Milha (10-11%) (Schlafer, 2011; Morresey, 2004; Koterba, 1990). A maior proporção entre peso do potro e placenta, observado em dois animais com alterações clínicas, é associado a áreas de placentite, levando ao aumento da espessura, edema, exsudato e alterações de coloração, bem como nascimento de animais de menor peso (Schlafer, 2011). A presença de alterações no tecido placentário pode levar a menor troca gasosa e nutricional e possibilidade esses animais a apresentarem alterações clínicas ao nascimento ou nas primeiras horas de vida (Canisso et al., 2015; Morresey, 2004).

Embora a hemocultura tenha como principais vantagens a identificação do microrganismo envolvido, sensibilidade a antimicrobianos e direcionamento da terapia, os resultados negativos reforçam a necessidade de avaliação de diversos parâmetros para diagnóstico de sepse neonatal, conforme já descrito por McKenzie e Furr (2001). A aplicação dos escores de SIRS e sepse permitiu o diagnóstico de animais potencialmente sépticos e sépticos, direcionando a terapia de forma precoce. Para os demais animais com escores e culturas sanguíneas negativas, o julgamento clínico foi determinante para conduzir a terapia.

De forma geral, o comportamento normal do recém-nascido no pós-parto imediato é caracterizado por assumir postura de decúbito esternal e reflexo de sucção com poucos minutos, postura de estação até uma hora e até 2 horas a primeira mamada. A eliminação do mecônio e primeira urina podem acontecer de 2-12 horas e 6-10 horas depois, respectivamente (Stoneham, 2006). Mesmo com variações nesses tempos entre raças, os recém-nascidos MM saudáveis do estudo apresentaram tempo médio dentro do esperado para parâmetros normais (Tab. 3). Os animais com alterações ao nascimento excederam o tempo máximo preconizado para assumir postura em estação e realizar a primeira mamada. Estes animais precisaram de auxílio para levantar-se e/ou para permanecer em estação e mamar.

Embora os parâmetros comportamentais gerais sejam usados com frequência, mesmo sem especificação de raça, algumas características devem ser levadas em consideração. Recém-nascidos de raças maiores ou indivíduos maiores podem apresentar tempo maior para ficar em estação pela dificuldade de coordenação inicial ao assumir a postura (Stoneham, 2011). Estes animais podem levar até 180 minutos para iniciar a amamentação. Raças leves iniciam amamentação com poucos minutos após assumirem esta postura (Stoneham, 2006), ocorrendo normalmente em tempo mais curto quando comparado com raças maiores. Como foi observado nos animais com alterações comportamentais, atrasos nos parâmetros merecem atenção quanto ao nível de maturidade e saúde dos neonatos, bem como, alguns animais já são considerados anormais quando extrapolam o tempo máximo aceitável para cada comportamento (Stoneham, 2006; Kurtz Filho et al., 1997). Os principais sinais de potros doentes ao nascimento são letargia, ausência de reflexo de sucção, inabilidade para ficar em estação ou parar e manter a postura para amamentação (Milla, 2013; Lester, 2005; Rossdale, 1968).

Os neonatos MM saudáveis do estudo apresentaram um tempo médio para primeira mamada e eliminação do mecônio inferior ao máximo determinado nos parâmetros gerais (Stoneham, 2011; Stoneham, 2006; Acworth, 2003) ou raças específicas (Cruz et al., 2017; Kurtz Filho et al., 1997). O mecônio que constitui líquido alantoide, células dendríticas e secreções do trato gastrointestinal que se acumulam no reto e cólon menor, tem sua eliminação estimulada pela alimentação. A alimentação com colostro estimula a motilidade do trato gastrointestinal e acelera a eliminação do mecônio (Morresey, 2005). Está rápida eliminação é provavelmente consequência do desenvolvimento intestinal acelerado mediado pela amamentação e liberação de hormônios e neuropeptídeos estimulando a função intestinal pós-natal (Stoneham, 2006). Nenhum dos animais saudáveis do estudo apresentou retenção de mecônio. Dentre os cinco animais com alterações clínicas e/ou comportamentais ao nascimento, dois apresentaram retenção de mecônio. Embora sem diferença estatística entre os tempos de eliminação do mecônio ($p > 0,05$), o tempo médio superior para eliminação nos animais com alterações é atribuído ao maior tempo para realizar a primeira mamada ($p < 0,05$) e consequentemente atraso no estímulo da motilidade intestinal.

Diversas alterações significativas nos parâmetros físicos de exames diários foram observadas ao longo da primeira semana. A menor temperatura registrada no período analisado foi após o nascimento, provavelmente atribuído a imaturidade dos centros reguladores de temperatura, grande superfície temporal exposta ao meio ambiente e falta de tecido subcutâneo (Cavil, 1996). Um fator relevante que contribui para menor temperatura imediatamente após o nascimento no

recém-nascido equino é a evaporação do líquido amniótico, que os potros nascem envoltos, levando a perda de calor por convecção. A temperatura média elevada, quando comparada com animais adultos (Corley e Stephen, 2008), observada nas avaliações a partir das 12 horas de vida, pode ser atribuída a aumento do metabolismo, maior movimentação do potro e ingestão de colostro. A termorregulação efetiva depende de altos níveis de atividade e frequência de ingestão de colostro e leite. Nas primeiras horas após o nascimento os tremores apresentados pelos recém-nascidos é um mecanismo usado para aumentar a temperatura corporal (Schlafer, 2011). A temperatura retal observada no período de análises foi considerada fisiológica para essa faixa etária, como já descrito por Koterba (1990) e Feitosa (2014).

A frequência respiratória nos neonatos é estimulada inicialmente pela relativa hipoxemia e hipercapnia identificada inicialmente após o nascimento (Stoneham, 2011). A característica dos pulmões nos neonatos em serem relativamente inelásticos, limita o volume corrente e aumenta o esforço para respirar. Além disso, a alta frequência respiratória dos recém-nascidos, quando comparado a adultos (Speirs, 1997), tem como objetivo compensar a baixa capacidade residual funcional e evitar colapso pulmonar e o uso de energia para re-inflar, além de manter gasometria contínua (Stewart et al., 1984). Durante o período analisado a frequência respiratória dos neonatos MM permaneceu com média superior, quando comparada a descrições anteriores no mesmo período (Knottenbelt et al., 2004; Koterba, 1990). Diferentes de descrições gerais para equinos no qual o momento de maior frequência respiratória ocorre nas primeiras horas (Koterba, 1990; Stewart et al., 1984), os animais do estudo apresentaram durante a avaliação com 24 horas de vida. Contudo, essa maior frequência só apresentou diferença estatística para a avaliação com sete dias de vida ($p < 0,05$). Esta característica respiratória pode ser atribuída a aspectos fisiológicas da raça, temperatura ambiente, necessidade de contenção e nível de agitação (Stoneham, 2006; Knottenbelt et al., 2004). Nenhum dos animais apresentou dispneia ou secreção nasal nos primeiros sete dias de vida.

A frequência cardíaca apresentou característica similar a descrições anteriores (Stoneham, 2006; Koterba, 1990), com maior taxa observada nas primeiras horas e posterior diminuição gradativa. Entretanto, a frequência média para cada momento analisado apresentou valores superiores a animais PSI (Stoneham, 2006; Koterba, 1990). Durante o período neonatal, o débito cardíaco é regulado pela frequência cardíaca ao invés do volume sistólico, o que justifica a maior frequência quando comparado aos adultos (Acworth, 2003). A maior frequência nas primeiras horas é atribuída também ao esforço para permanecer em estação. As demais análises

ao longo da primeira semana de vida sofrem a influência do nível de atividade e excitação (Stoneham, 2006; Knottenbelt et al., 2004; Koterba, 1990).

Durante todo período de análises, o comportamento foi considerado normal para a faixa etária, incluindo se proteger atrás da égua quando os examinadores se aproximavam, amamentação com frequência, interação com a égua e curiosidade quando acordado. Nos animais saudáveis não foram identificadas alterações relacionadas ao sistema digestivo, musculoesquelético, nervoso, urinário ou tegumentar durante o acompanhamento. As mucosas apresentaram coloração rósea, úmidas e tempo de preenchimento capilar de 1 a 2 segundos, característica normal para a espécie e faixa etária (Koterba, 1990).

O conhecimento dos parâmetros do exame físico para neonatos da raça Mangalarga Marchador auxilia nos protocolos de avaliação e identificação de alterações durante esse período. Os parâmetros avaliados nos animais saudáveis apresentaram adaptações que ocorreram ao longo dos dias na primeira semana de vida. Estes dados serão de grande valia para avaliações e monitoramento dos neonatos Mangalarga Marchador na primeira semana de vida, evitando-se a utilização de parâmetros determinados para outras raças.

5. CONCLUSÃO

O tempo gestacional, relação peso do potro com o peso da progenitora e da placenta, e características comportamentais encontrados no presente estudo são parâmetros específicos para a raça e auxiliarão em avaliações de neonatos MM. O menor peso médio ao nascimento (32,24Kg) e proporção de peso materno inferior a descrições gerais para a espécie (7,53%), evidenciam características importantes para avaliações clínicas e zootécnicas. A diferença entre os tempos gestacionais de animais saudáveis (337 ± 12 dias) e doentes (326 ± 13 dias) destacam a importância deste parâmetro na avaliação neonatal. As diferenças observadas de frequência cardíaca e respiratória, quando comparados a descrições gerais para neonatos equinos, refletem características da raça, adaptação pós-natal e influência do ambiente e manejo.

6. REFERÊNCIAS

ACWORTH, N. R. J. The healthy neonatal foal: routine examinations and preventative medicine. *Equine Vet. Educ.*, v. 15, n. 4, p. 207-211, 2003.

ALLEN, W. R.; WILSHER, S.; et al. The influence of maternal size on pre-and postnatal growth in the horse: III Postnatal growth. *Reproduction*, v. 127, n. 1, p. 67-77, 2004.

ALLEN, W. R.; WILSHER, S.; et al. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. *Reproduction*, v. 123, n. 3, p. 445-453, 2002.

ALMEIDA, F.Q.; BRITO, C.O.; et al. Crescimento de potros da raça Mangalarga Marchador. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, n. 38, Viçosa, MG. *Anais... Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 2000. p.1-3.

AUSTIN, S. M. Assessment of the equine neonate in ambulatory practice. *Equine Vet. Educ.*, v. 25, n. 11, p. 585-589, 2013.

BARR B. Assessment of the neonatal foal/ treatment considerations. In: NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE CONGRESS, Orlando, Florida. *Proceeding...* Orlando, Florida: NAVAC, 2007. p.79-81.

BAZZANO, M., GIUDICE, E., et al. Vital Parameters in Newborn Thoroughbred foals during the first week of life. *Int. J. Anesthesiol. Res.*, v. 2, p. 27-30, 2014.

BROMERSCHENKEL, I.; FERREIRA, L.; et al. Comparação entre diferentes metodologias para a estimativa do peso em potros neonatos da raça mangalarga marchador. *Revista Científica de Medicina Veterinária-UNORP*, v. 2, n. 1, p. 46-53, 2018.

CALIL, V. M. L. T. Caracterização do recém-nascido pré-termo. In: LEONE, C. R.; TRONCHIN, D. M. R. *Assistência Intergrada ao Recém-Nascido*. Atheneu, São Paulo, 1996. p. 79-95.

CANISSO, I., BALL, B. A., EROL, E., SQUIRES, E. L., TROEDSSON, M. H., & DACT, D. (2015, December). Comprehensive review on equine placentitis. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, Las Vegas, Nevada, USA, 61., 2015. *Proceedings...* Las Vegas, NV: AAEP, 2015. p. 5-9.

CORLEY, K.; STEPHEN, J. Procedures in the adult horse. In: ____ *The Equine Hospital Manual*. United Kingdon: Blackwell Publishing, 2008. Cap. 1, p. 3-114.

CRUZ, R. K.; ALFONSO, A.; et al. Evaluation of neonatal vitality and blood glucose, lactate and cortisol concentrations in foals of the Paint Horse breed. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 37, p. 891-896, 2017.

- CRUZ, R. K. S.; ALFONSO, A.; et al. Electrolyte, blood gas and electrocardiographic profile of neonatal foals in the first 48 hours of life. *Acta Sci. Vet.*, v.43, p.1321-1327, 2015.
- DA SILVA, G. C., NOGUEIRA, C. E. W., et al. Fatores que influenciam o tempo de gestação em éguas–Revisão de literatura. *Res., Soc. Dev.*, v. 10, n. 5, 2021.
- DIAS, A. C. C.; CABRAL, G. C.; et al. Development of Mangalarga Marchador suckling foals supplemented with fructooligosaccharides. *Ver. Bras. Zootec.*, v. 46, p. 747-754, 2017.
- ELLIOTT, C.; MORTON, J.; CHOPIN, J. Factors affecting foal birth weight in Thoroughbred horses. *Theriogenology*, v. 71, n. 4, p. 683-689, 2009.
- FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. In: ____ *Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico*, 3. Ed., São Paulo: Editora Roca Ltda, 2014. Cap. 4, pag. 122-159.
- HUNKA, M. M.; COSTA CORDEIRO, H. E. C.; et al. Development and body composition of Quarter Horse foals during nursing. *Open J. Vet. Med.*, v. 4, n. 276- 280, 2014.
- KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. Perinatal Review. In: ____ *Equine neonatology medicine and surgery*. Tottenham, London: Saunders Ltd., 2004. Cap. 4, p. 75-94
- KOTERBA, A. M. Physical Examination. In: KOTERBA A, DRUMMOND W, KOSCH P, editors. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. Cap. 6, p. 71- 83.
- KURTZ FILHO, M.; DEPRÁ, N. M.; et al. Parâmetros fisiológicos e etológicos do potro recém-nascido, na raça puro-sangue de corrida. *Braz. J. Vet. Res, Anim. Sci.*, v. 34, n. 2, p. 103-108, 1997.
- LESTER, G. D. Maturity of the neonatal foal. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, v. 21, n. 2, p. 333-355, 2005.
- LIMA, J. T. B.; WINTER, I. C.; et al. Mammary gland secretion pH and electrolytes in prepartum Mangalarga Marchador mares. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 74, p. 437-445, 2022.
- MATTA, M. P. D. (2013). Avaliação dos parâmetros de gestação de éguas da raça Mangalarga Marchador, 2013. 115p. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/5800/1/texto%20completo.pdf>>. Acesso em 17 dez. 2022.
- MILLAR, B. Understanding the normal neonatal foal. *Veterinary Nursing Journal*, v. 28, n. 11, p. 352-355, 2013.

MCKENZIE, H. C.; FURR, M. O. Equine neonatal sepsis: The pathophysiology of severe inflammation and infection. *Compendium Equine Edition*, v. 23, n. 7, 2001.

MORRESEY, P. R. (2004). How to perform a field assessment of the equine placenta. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 50., 2004, Denver, Colorado, USA. *Proceedings...* Denver, Colorado: AAEP Annual Convention, 2004. p. 409-414.

MORRESEY, P. R. Prenatal and perinatal indicators of neonatal viability. *Clin. Tech. Equine Pract.*, v. 4, n. 3, p. 238-249, 2005.

OLIVEIRA, G. J. C. D. Fatores que afetam a duração da gestação e do intervalo de partos na raça mangalarga marchador em regiões subtropical e tropical, 1992. 51p. Disponível em: <https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFLA_9897c9ae69bb4075a8cdc4c4c5e9cd94>. Acesso em 17 dez. 2022.

ROSSDALE, P.D. Abnormal perinatal behaviour in the thoroughbred horse. *Br. Vet. J.*, v. 124, n.12, p.540-53, 1968.

ROSSDALE, P.D., OUSEY, J.C., SILVER, M. AND FOWDEN, A. Studies on equine prematurity 6: Guidelines for assessment of foal maturity. *Equine Vet. J.*, v. 16, p. 300-302, 1984.

SCHLAFER, D. H. Examination of the placenta. In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VANER, D. D. *Equine Reproduction*, 2. Ed., United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011. cap. 9, p. 99-110.

SIQUEIRA, M. C., SOUZA, M., & BUZZETTI, A. (2018). Caracterização morfométrica de potros neonatos da raça Mangalarga Marchador. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 28, 2018, Goiânia, GO. *Anais... Goiânia, GO: 55ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia/ 28º congresso Brasileiro de Zootecnia*, 2018. 5p.

SOUZA, F. A. C. D., MUNIZ, J. A., FERNANDES, T. J., CUNHA, F. O., MEIRELLES, S. L. C., SOUZA, J. C. D., & MOURA, R. S. D. Estimation methods and correction factors for body weight in Mangalarga Marchador horses. *Ver. Bras. Zootec.*, v. 46, p. 903-909, 2017.

SPEIRS, V. C. O exame clínico. In: ___ *Exame Clínico de Equinos*. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda, 1997. Cap. 2, pag. 19-36.

STEWART, J. H., Rose, R. J., & BARKO, A. M. Respiratory studies in foals from birth to seven days old. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 4, p. 323-328, 1984.

STONEHAM, S. J. Assessing the newborn foal. In: PARADIS, M. R. *Equine neonatal medicine: A case-based approach*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. Cap. 1, pag. 1-11.

STONEHAM, S. J. The normal postpartum foal. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VANER, D. D. *Equine Reproduction*, 2. Ed., United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2011. cap. 6, p. 63-68.

WILSHER, S., & ALLEN, W. R. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. *Equine Vet. J.*, v. 35, n. 5, p. 476-483, 2003.

CAPÍTULO IV

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE POTROS MANGALARGA MARCHADOR DURANTE A PRIMEIRA SEMANA DE VIDA

Resumo

O conhecimento dos mecanismos de adaptação e a dinâmica das alterações metabólicas e fisiológicas são importantes durante a interpretação de exames complementares laboratoriais de neonatos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a dinâmica de valores hematológicos e bioquímicos durante a primeira semana de vida de neonatos equinos da raça Mangalarga Marchador. Para isso, foram avaliados 28 potros hípidos durante a primeira semana de vida, com coletas seriadas com <1, 12, 24, 48, 72 horas e 7 dias de vida. Foram testados os efeitos dos grupos, do tempo e da interação de forma global (overall) e calculados os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada tratamento e cada tempo. Na avaliação hematológica observou-se diminuição na contagem de eritrócitos e hematócrito entre os tempos <1h e 12 horas após o nascimento ($p<0,05$), enquanto a hemoglobina diminuiu nas primeiras 24 horas de vida ($p<0,001$). Plaquetas e VCM apresentaram maiores concentrações nas coletas com <1h de vida ($p<0,05$) e o RDW-CV apresentou maior variabilidade com 12 horas de vida ($p<0,05$). A contagem dos leucócitos apresentou maior concentração com 12 horas de vida ($p<0,001$). Os linfócitos apresentaram diminuição da concentração ao longo das coletas, apresentando menor média com 72 horas de vida ($p<0,05$), os neutrófilos segmentados apresentaram aumento gradativo com maior média com 7 dias de vida. Os eosinófilos apresentaram comportamento semelhante aos neutrófilos e os monócitos não apresentaram diferença nos tempos analisados ($p>0,05$). A concentração sérica de ureia e creatinina apresentaram maiores concentrações na primeira coleta ($p<0,05$). Proteínas plasmáticas totais (PPT) e globulinas séricas apresentaram menor concentração na primeira coleta ($p<0,05$). A albumina se manteve estável durante todas as análises. A bilirrubina total, bilirrubina indireta e GGT apresentaram aumento até a segunda coleta ($p<0,05$). A bilirrubina direta apresentou a maior concentração com 24 horas de vida ($p<0,001$). A glicemia apresentou aumento entre as 3 primeiras coletas ($p<0,001$) e lactato demonstrou maior concentração na coleta com 12 horas de vida ($p<0,05$). O fibrinogênio obteve menor concentração com 48 horas de vida, diferindo apenas da coleta com <1 hora de vida ($p<0,05$). O Cálcio sérico apresentou maior concentração com 72 horas de vida e o Magnésio com 24 horas de vida, diferindo da coleta com <1 hora de vida ($p<0,05$). O Potássio e Sódio apresentaram menores concentração com 24 horas de vida ($p<0,05$). Não houve alteração estatística para o Cloreto entre as coletas avaliadas quando comparadas com a coleta com <1 horas de vida ($p>0,05$). As variações evidenciadas nos parâmetros estudados possibilitam a avaliação individualizada de potros da raça Mangalarga Marchador e devem ser utilizadas como parâmetro diagnóstico e para acompanhamento desses animais.

Palavras-chave: Potros. Hemograma. Perfil. Adaptação.

Abstract

To better interpret bloodwork parameters in equine neonates it is important to understand the adaptation mechanisms and dynamics of metabolic and physiological changes that occur during this period. The aim of this work was to evaluate the dynamics of hematological and biochemical values during the first week of life of newborn Mangalarga Marchador horses. Twenty-eight healthy foals were evaluated during the first week of life and serial blood collections were performed at <1, 12, 24, 48, 72 hours and 7 days of life. The effects of groups, time and interaction were tested globally (overall) and mean values and their respective 95% confidence intervals were calculated for each treatment and each time. Hematological evaluation revealed a decrease in erythrocyte count and hematocrit between <1h and 12 hours after birth ($p<0.05$). Hemoglobin decreased in the first 24 hours of life ($p<0.001$), platelets and VCM had higher concentrations at the <1h collection time ($p<0.05$) and RDW-CV showed greater variability at 12 hours of life ($p<0.05$). The leukocyte count showed the highest concentration at 12 hours of life ($p<0.001$). Lymphocytes decreased in concentration throughout collections, with a lower average at 72 hours of life ($p<0.05$). Segmented neutrophils and eosinophils had a gradual increase with a higher average at 7 days of life ($p>0.05$). The serum concentration of urea and creatinine were higher in the first collection ($p<0.05$), while total plasma proteins (TPP) and globulins had lower concentrations at the same time ($p<0.05$). Albumin remained stable during all analyses. An increase from the first to the second collection point was observed in the concentrations of total bilirubin, indirect bilirubin and GGT ($p<0.05$). Direct bilirubin had the highest concentration at 24 hours of life ($p<0.001$). Glycemia increased between the first 3 collections ($p<0.001$) and a higher concentration of lactate was observed at 12 hours of life ($p<0.05$). Fibrinogen had a lower concentration at 48 hours of life, which was statistically significant when compared with the first collection (<1 hour old) ($p<0.05$). A higher concentration of serum was noted at 72 hours of life and Magnesium at 24 hours of life, both with a significant difference when compared to the time point <1 hour of life ($p<0.05$). Potassium and Sodium showed lower concentrations at 24 hours of age ($p<0.05$). There was no significant statistical differences for Chloride concentrations between timepoints when compared to <1 hour of life ($p>0.05$). The observed laboratory parameters are breed specific and should be used as diagnostic tools to monitor sick Mangalarga Marchador foals.

Keywords: Foals. Blood count. Profile. Adaptation.

1. INTRODUÇÃO

O período neonatal compreende uma fase de importantes adaptações fisiológicas e metabólicas de órgãos e sistemas para adequação do potro ao ambiente extrauterino (Rossdale, 2004). Estas adaptações compreendem mudanças constantes de parâmetros fisiológicos (Grondin e Dewitt, 2010). Nesse período, os neonatos estão particularmente mais susceptíveis a afecções e diversas condições infecciosas e/ou metabólicas podem estar presentes (Dwyer, 2008; Knottenbelt et al., 2004).

Durante avaliações clínicas é imprescindível o conhecimento dos mecanismos de adaptação dos neonatos e a dinâmica das alterações nos parâmetros avaliados que podem surgir como consequência (Santos et al., 2014). Os exames hematológicos e bioquímicos são de extrema importância no período neonatal, utilizados principalmente para prevenção, monitoramento da saúde, diagnósticos precisos e como indicadores de processos patológicos (Aoki e Ishii, 2012). Contudo, animais de diferentes raças, idades, sexo, região geográfica e sistema de criação possuem necessidades metabólicas, energéticas e nutricionais diferenciadas que irão gerar diferentes perfis hematológico e bioquímico (Madureira et al., 2013). Além disso, alguns analitos podem variar com gestação, estado emocional e nível de atividade, bem como os métodos e equipamentos utilizados (Harvey, 2012).

Mesmo com conhecimento dos fatores que influenciam parâmetros laboratoriais, intervalos de referência específicos para idades e diferentes raças estão disponíveis apenas para algumas raças (Vieira et al., 2018; Uluisik et al., 2013; Aoki e Ishii, 2012; Moruzzi et al., 2007; Harvey et al., 1984). Características relacionadas com a idade impedem o uso de parâmetros laboratoriais de animais adultos na avaliação de potros, tornando perfis hematológicos e bioquímicos específicos para faixas etárias indispensáveis em investigações clínicas (Harvey et al., 1984). Além da idade, resultados obtidos em raças específicas são aplicados de maneira generalista para as demais.

A raça Mangalarga Marchador tem origem na região sul do estado de Minas Gerais e é uma das mais importantes e numerosas no Brasil. Os animais são famosos pela comodidade da marcha, rusticidade, temperamento ativo e dócil (ABCCMM, 2022; Ribeiro et al., 2018). A raça possui grande impacto social e econômico no âmbito nacional e internacional, com a exportação de diversos exemplares para outros países. Até o momento não existem valores de referência hematológicos e bioquímicos publicados para potros Mangalarga Marchador no período neonatal. O objetivo deste trabalho foi determinar valores hematológicas e bioquímicas durante a primeira semana de vida de neonatos equinos hípidos da raça Mangalarga Marchador.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Seleção dos Animais

Foram avaliados parâmetros hematológicos e bioquímicos de 28 potros da raça Mangalarga Marchador (16 machos e 12 fêmeas) durante a primeira semana de vida, provenientes de haras registrado na Associação brasileira de criadores de cavalos Mangalarga Marchador (ABCCMM), no município de Curvelo, Minas Gerais, Brasil, latitude S 18°44'37" longitude O 44°26'48". A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA/UFMG (protocolo 374/2019).

Durante a gestação, as éguas foram mantidas em piquete maternidade com disponibilidade de volumoso, água e sal mineral. Os animais nasceram durante a temporada de reprodução 2020 e 2021 (novembro a fevereiro). Os partos foram monitorados e não houve necessidade de intervenção. Após o nascimento os potros foram avaliados quanto ao comportamento normal (interação materna, tempo para ficar em posição esternal (5 a 10 minutos), reflexo de sucção (5 a 20 minutos), tempo para ficar em estação (até 60 minutos) e primeira mamada (máximo de 2 horas)) (Curcio e Nogueira, 2012; Koterba, 1990). Realizou-se exame físico diário nos potros (inspeção geral, temperatura retal, avaliação do sistema cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, neurológico, musculoesquelético e urogenital (Koterba, 1990)), do nascimento ao término do experimento. Somente os potros provenientes de parto eutócico, sem alterações macroscópicas placentária, comportamento normal após o nascimento, sem alterações no exame físico e com imunoglobulinas G (IgG) acima de 800mg/dL com 24 horas de vida (adequada transferência de imunidade passiva) foram incluídos nas análises.

2.2 Coletas de Amostras

Os tempos determinados para as coletas de sangue foram antes da primeira mamada (<1 horas de vida) e coletas seriadas com 12, 24, 48, 72 horas e sete dias após o nascimento. As amostras de sangue foram coletadas por venopunção da jugular, utilizando agulhas 25x0,7mm em tubos de 10mL à vácuo sem anticoagulante e tubos de 5mL com ácido etilodiamino tetra-acético (EDTA). Na sequência as amostras foram refrigeradas e encaminhadas ao laboratório MULTILAB (Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias- Escola de Veterinária /UFMG) para realização de hemograma e exames bioquímicos. Os tubos contendo EDTA foram usados para avaliação hematológica e os sem anticoagulantes foram centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm para separação do soro e congelados a -20°C para posterior análise.

2.3 Análises Hematológica e Bioquímica

Foram avaliados os seguintes parâmetros hematológicos: contagem eritrocitária e leucocitária, concentração de hemoglobina (Hb), hematócrito (Hct), volume corpuscular médio (VCM), concentração corpuscular média de hemoglobina (CHCM) e variabilidade do tamanho dos eritrócitos/ amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW). O leucograma incluiu contagem de leucócitos totais e diferencial celular. A avaliação eritrocitária, leucocitária e concentração de plaquetas foi realizada utilizando-se um analisador hematológico (Abacus® Diatron Group, Hungria) (Fantini et al., 2016), com conferência de diferencial leucocitário realizado por microscopia óptica em lâminas de esfregaço coradas com kit panóptico rápido (Rosenfield, 1947) (Laborclin, São José do Rio Preto, SP, Brasil).

Os parâmetros bioquímicos avaliados foram: concentração de creatinina, ureia, proteína plasmática total (PPT), albumina, globulina, bilirrubina total, bilirrubina direta e indireta, gama glutamil transferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), fibrinogênio, cálcio (Ca^{++}), fósforo (P), magnésio (Mg^{++}), sódio (Na^+), cloreto (Cl^-) e potássio (K^+). Para avaliação bioquímica foram utilizadas as alíquotas congeladas a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, com análise realizadas em analisador bioquímico automático (Smart 200+ Vet®, Biotécnica, Varginha/MG- Brasil) e kits comerciais (Biotécnica Indústria e Comércio Ltda, Varginha, MG, Brasil) (Lopes et al., 2021). A determinação da concentração de lactato sérico e glicemia foi realizada imediatamente após a coleta, utilizando-se os aparelhos portáteis Accutrend® Plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha) (Slovis et al., 2020) e Accu-Chek® Active (Roche Diabetes Care Brasil Ltda., São Paulo/SP- Brasil) (Bromerschenkel et al., 2015), respectivamente. A quantificação de IgG foi avaliada com 24 horas de vida e realizada por meio de imunodifusão radial (Radial Immunodiffusion Test of Equine IgG®, Triple J Farm, Bellingham, WA, USA). O fibrinogênio foi determinado pelo método de precipitação por calor (Millar et al., 1971).

2.4 Análise Estatística

Para testar as diferenças entre grupos, levando em consideração o tempo, foram ajustados modelos de equações de estimativas generalizadas para cada variável resposta (Guimarães & Hirakata, 2012). Foi utilizada uma estrutura de autocorrelação temporal de simetria composta. Escolheram-se as distribuições de probabilidade apropriadas para cada variável resposta. Após o ajuste do modelo, testaram-se os efeitos dos grupos, do tempo e da interação de forma global (overall) e calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança

para cada tratamento para cada tempo. Para as comparações múltiplas utilizou-se o teste de Tukey.

3. RESULTADOS

O tempo médio de gestação foi de 337 ± 12 dias, com recém-nascidos apresentando comportamento normal ao nascimento e ausência de alterações clínicas durante o período de acompanhamento. Os dados estão expressos em médias \pm erro padrão para cada momento de coleta e diferença entre tempos, aplicados para as variáveis hematológicas, metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas, e concentração de eletrólitos séricos (Tab. 4, 5 e 6, respectivamente). Os intervalos de referência determinados para os potros Mangalarga Marchador durante a primeira semana de vida estão disponíveis nos Apêndices A (parâmetros hematológicos), B (metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas), e C (eletrólitos séricos).

3.1 Hematologia

A concentração média dos parâmetros hematológicos e diferença entre os tempos analisados está expressa na Tabela 4. A contagem de eritrócitos apresentou diminuição significativa ($p < 0,05$) entre o tempo $< 1h$ e 12 horas após o nascimento, com estabilização nos tempos seguintes. Resultado similar foi observado no Hct, com diminuição até o tempo 12 horas ($p < 0,001$), seguido de manutenção nas comparações seguintes. Em relação a Hb, a diminuição ocorreu nas primeiras 24 horas de vida ($p < 0,001$), na sequência não houve diferenças estatísticas.

O CHCM exibiu maiores concentrações nos tempos 72 horas e sete dias de vida, com diferença significativa para as coletas $< 1h$ e 12 horas ($p < 0,05$). A amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) expresso em coeficiente de variação (CV) apresentou maior variabilidade na coleta com 12 horas de vida, com diferença para coletas a partir das 48 horas ($p < 0,05$), enquanto o VCM reduziu gradativamente nos primeiros 7 dias ($p < 0,001$). As plaquetas apresentaram maior concentração na primeira coleta com diferença significativa para as demais ($p < 0,001$).

A contagem total de leucócitos apresentou aumento significativo entre as duas primeiras coletas após o nascimento ($p < 0,001$), seguido de redução nos tempos 24 e 48 horas ($p < 0,05$). Houve aumento no número de leucócitos totais aos 7 dias de vida com semelhança estatística com o tempo de 12 horas ($p > 0,05$). Em relação aos linfócitos, houve diminuição gradativa do valor médio a partir do tempo 12 horas até 72 horas de vida. Com 7 dias de vida, os linfócitos não

apresentaram diferença entre os demais tempos de coleta ($p > 0,05$). Os neutrófilos segmentados apresentaram menor média na primeira coleta e diferença significativa quando comparado com as coletas com 72 horas e 7 dias de vida ($p < 0,05$). Os eosinófilos exibiram comportamento semelhante aos neutrófilos, porém com diferença observada entre a primeira coleta e coletas a partir de 48 horas de vida ($p < 0,001$). Os monócitos não apresentaram diferenças entre os tempos de coletas ($p > 0,05$).

Tabela 4: Concentração média dos parâmetros hematológicos (média \pm EP) e diferença entre coletas para potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida. Os tempos descritos representam o tempo de coletas na primeira semana de vida

	Tempo de vida					
	<1h	12h	24h	48h	72h	7d
Eritrócitos ($10^6/\mu\text{L}$)	9,49 \pm 0,24 ^b	8,74 \pm 0,12 ^a	8,63 \pm 0,13 ^a	8,65 \pm 0,24 ^{ab}	8,45 \pm 0,24 ^a	8,51 \pm 0,23 ^a
Hemoglobina (g/dL)	15,2 \pm 0,31 ^c	13,7 \pm 0,21 ^b	13,31 \pm 0,2 ^a	12,98 \pm 0,31 ^{ab}	13,44 \pm 0,44 ^{ab}	12,85 \pm 0,34 ^{ab}
Hematócrito (%)	44,36 \pm 085 ^c	39,84 \pm 0,72 ^b	39,20 \pm 0,67 ^{ab}	38,01 \pm 0,77 ^{ab}	37,43 \pm 0,66 ^a	37,78 \pm 0,68 ^{ab}
CHCM (g/dL)	35,45 \pm 0,7 ^a	35,96 \pm 0,51 ^a	35,52 \pm 0,94 ^{ab}	35,81 \pm 1,07 ^{ab}	37,46 \pm 0,63 ^b	37,73 \pm 0,59 ^b
VCM (fL)	44,54 \pm 0,61 ^e	43,87 \pm 0,54 ^d	43,25 \pm 0,57 ^c	42,75 \pm 0,59 ^{bc}	42,10 \pm 0,58 ^b	41,01 \pm 0,51 ^a
RDW-CV (%)	15,81 \pm 0,15 ^{bc}	15,81 \pm 0,11 ^c	15,7 \pm 0,13 ^{bc}	15,33 \pm 0,12 ^a	15,33 \pm 0,14 ^{ab}	15,55 \pm 0,14 ^{ab}
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	337,41 \pm 18,6 ^d	238,37 \pm 10,76 ^c	223,17 \pm 11,09 ^{bc}	208,25 \pm 10,85 ^b	186,80 \pm 8,46 ^a	205,33 \pm 11,1 ^{abc}
Leucócitos totais ($10^3/\mu\text{L}$)	6473,06 \pm 285,97 ^a	9045,33 \pm 472,71 ^c	7897,65 \pm 327,41 ^b	6530,73 \pm 406,5 ^a	6976,33 \pm 333,94 ^a	9816,00 \pm 551,23 ^c
Linfócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	3,32 \pm 0,55 ^{ab}	3,76 \pm 0,73 ^b	3,48 \pm 0,61 ^b	1,96 \pm 0,44 ^{ab}	1,52 \pm 0,43 ^a	3,08 \pm 0,71 ^{ab}
Segmentados ($10^3/\mu\text{L}$)	2,64 \pm 0,5 ^a	4,58 \pm 0,61 ^{ab}	3,68 \pm 0,49 ^{ab}	3,89 \pm 0,49 ^{ab}	4,63 \pm 0,4 ^b	5,75 \pm 0,77 ^b
Monócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	0,46 \pm 0,1 ^a	0,55 \pm 0,06 ^a	0,62 \pm 0,07 ^a	0,54 \pm 0,06 ^a	0,53 \pm 0,04 ^a	0,66 \pm 0,08 ^a
Eosinófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	0,12 \pm 0,02 ^a	0,17 \pm 0,02 ^{ab}	0,17 \pm 0,02 ^{ab}	0,25 \pm 0,03 ^{bc}	0,37 \pm 0,03 ^d	0,31 \pm 0,04 ^{cd}

Letras diferentes nas linhas representam diferença estatística entre os tempos de coleta ($p < 0,05$). Abreviações: VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW, amplitude de distribuição dos eritrócitos (red blood cell distribution width); CV, coeficiente de variação; EP, Erro padrão; g/dL, gramas por decilitros; μL , microlitros; h, horas de vida; d, dias de vida.

3.2 Metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas

A concentração média dos metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas e diferença entre os tempos analisados está expressa na Tabela 5. A concentração de ureia diminuiu nas primeiras 72 horas de vida ($p < 0,05$), e a creatinina sérica exibiu redução significativa até a coleta com 24 horas pós-nascimento ($p < 0,001$) e menor média obtida aos sete dias. Houve um aumento de proteínas plasmática totais entre as duas primeiras coletas ($p < 0,001$), com posterior manutenção entre as coletas seguintes ($p > 0,05$). Comportamento similar foi observado nas globulinas, enquanto a albumina não apresentou alteração ao longo das coletas ($p > 0,05$). A quantificação das imunoglobulinas G foi realizada apenas com 24 horas de vida, apresentando concentração média de $3.589,25 \pm 878,48$ mg/dL.

A concentração de AST não apresentou diferenças nas primeiras 24 horas de vida ($p > 0,05$), porém houve elevação significativa nas demais coletas ($p < 0,001$). A GGT apresentou aumento significativo entre as duas primeiras coletas ($p < 0,001$) e manutenção nas coletas subsequentes, com exceção da coleta com 48 horas ($p < 0,05$). A concentração de bilirrubina total aumentou até a coleta com 12 horas ($p < 0,05$) e posterior redução gradativa a partir do tempo 24 horas, obtendo menor valor médio na coleta de 7 dias. Resultados semelhantes foram obtidos com a bilirrubina indireta. A bilirrubina direta exibiu maior média no tempo 24 horas, com diferença significativa para as coletas 12 e 48 horas ($p < 0,001$).

A concentração de glicose apresentou aumento significativo entre as 3 primeiras coletas ($p < 0,001$), seguido de estabilização. O lactato sérico demonstrou maior média no tempo 12 horas de vida, com diminuição significativa quando comparado com as coletas subsequentes ($p < 0,05$). O fibrinogênio apresentou diferença significativa apenas entre a primeira e a coleta com 48 horas ($p < 0,05$).

Tabela 5: Concentração média de metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas (média ± EP) e diferença entre coletas para potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida. Os tempos descritos representam o tempo de coletas na primeira semana de vida

	Tempo de vida					
	<1h	12h	24h	48h	72h	7d
Ureia (mg/dL)	45,62 ± 2,29 ^d	36,12 ± 1,62 ^c	35,68 ± 1,57 ^c	26,47 ± 1,21 ^b	21,05 ± 0,94 ^a	26,92 ± 2,44 ^{bc}
Creatinina (mg/dL)	2,12 ± 0,13 ^d	1,44 ± 0,05 ^c	1,02 ± 0,03 ^b	0,98 ± 0,05 ^b	1,18 ± 0,26 ^{abcd}	0,85 ± 0,03 ^a
PPT (g/dL)	3,78 ± 0,24 ^a	5,87 ± 0,21 ^{bc}	5,95 ± 0,15 ^{bc}	5,96 ± 0,19 ^{bc}	6,10 ± 0,17 ^c	5,82 ± 0,13 ^b
Globulina (g/dL)	0,62 ± 0,30 ^a	2,73 ± 0,19 ^{bc}	2,98 ± 0,2 ^{bc}	2,90 ± 0,17 ^{bc}	2,98 ± 0,16 ^c	2,69 ± 0,11 ^b
Albumina (g/dL)	3,23 ± 0,23 ^a	3,13 ± 0,05 ^a	2,98 ± 0,14 ^a	3,05 ± 0,05 ^a	3,12 ± 0,03 ^a	3,14 ± 0,04 ^a
IgG (mg/dL) *	---	---	3.589,25 ± 878,48	---	---	---
AST (U/L)	118,47 ± 12,63 ^a	137,43 ± 7,32 ^a	143,06 ± 5,07 ^a	163,37 ± 7,24 ^b	186,32 ± 6,59 ^c	221,12 ± 7,55 ^d
GGT (U/L)	22,16 ± 2,23 ^a	33,32 ± 3,55 ^b	39,31 ± 2,38 ^b	26,17 ± 2,69 ^a	29,98 ± 3,20 ^b	34,52 ± 3,52 ^b
Bilr. Indireta (mg/dL)	1,97 ± 0,25 ^{abcd}	2,78 ± 0,20 ^{ef}	2,78 ± 0,26 ^{df}	2,35 ± 0,21 ^{ce}	1,98 ± 0,19 ^b	1,44 ± 0,16 ^a
Bilr. Direta (mg/dL)	0,42 ± 0,04 ^{abc}	0,35 ± 0,02 ^a	0,45 ± 0,01 ^c	0,39 ± 0,02 ^{ab}	0,39 ± 0,03 ^{abc}	0,44 ± 0,03 ^{bc}
Bilr. Total (mg/dL)	2,43 ± 0,24 ^{abc}	3,11 ± 0,2 ^{de}	3,21 ± 0,26 ^{ce}	2,72 ± 0,2 ^{bd}	2,36 ± 0,19 ^b	1,87 ± 0,15 ^a
Glicose (mg/dL)	62,90 ± 3,99 ^a	129,27 ± 3,57 ^b	146,09 ± 2,96 ^c	144,28 ± 2,43 ^c	149,53 ± 2,23 ^c	125,73 ± 2,61 ^b
Lactato (mmol/L)	3,73 ± 0,22 ^{bc}	3,84 ± 0,24 ^c	2,86 ± 0,17 ^{ab}	3,04 ± 0,21 ^{ab}	2,66 ± 0,12 ^a	2,54 ± 0,16 ^a
Fibrinogênio (mg/dL)	490,63 ± 55,38 ^b	423,33 ± 63,19 ^{ab}	436,99 ± 46,14 ^{ab}	314,44 ± 36,01 ^a	386,67 ± 61,05 ^{ab}	426,67 ± 43,19 ^{ab}

Letras diferentes nas linhas representam diferença estatística entre os tempos de coleta ($p < 0,05$). Abreviações: PPT, proteína plasmática total; AST, aspartato aminotransferase; GGT, gama glutamyl transferase; IgG, imunoglobulina G; mg/dL, miligramas por decilitro; g/dL, grama por decilitro; U/L, unidades por litro; mmol/L, milimols por litro; h, horas de vida; d, dias de vida. * média ± desvio padrão.

3.3 Eletrólitos séricos

A concentração média dos eletrólitos séricos e diferença entre os tempos analisados está expressa na Tabela 6. O cálcio sérico apresentou maior concentração com 72 horas de vida e diferença para os demais tempos ($p < 0,05$), exceto a coleta com 24 horas. Em relação ao Cloreto, houve diferença significativa entre os tempos 72 horas e 7 dias ($p < 0,05$), porém sem diferença quando comparado com os demais tempos. O Fósforo apresentou aumento médio significativo

entre os tempos coletados ($p < 0,05$), com exceção da comparação entre os tempos 24 e 48 horas ($p > 0,05$). O Potássio obteve menor concentração média no tempo 24 horas, não apresentando diferença estatística apenas com o tempo 12 horas ($p < 0,05$). Resultado semelhante foi apresentado pelo Sódio, com menor média no tempo 24 e diferente das demais coletas ($p < 0,05$). O Magnésio apresentou aumento significativo até o tempo 24 horas, seguindo de redução gradativa até a última coleta ($p < 0,05$).

Tabela 6: Concentração média de eletrólitos séricos (média \pm EP) e diferença entre coletas para potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida. Os tempos descritos representam o tempo de coletas na primeira semana de vida

	Tempo de vida					
	<1h	12h	24h	48h	72h	7d
Ca⁺⁺ (mg/dL)	11,5 \pm 0,36 ^a	11,27 \pm 0,48 ^{ab}	12,71 \pm 0,14 ^{bc}	11,85 \pm 0,39 ^{ab}	12,77 \pm 0,23 ^c	11,98 \pm 0,27 ^{ab}
Cl⁻ (mEq/L)	94,64 \pm 6,01 ^{ab}	98,84 \pm 0,99 ^{ab}	81,02 \pm 11,92 ^{ab}	94,69 \pm 2,97 ^{ab}	99,70 \pm 1,18 ^b	97,32 \pm 1,10 ^a
P (mg/dL)	3,26 \pm 0,15 ^a	4,08 \pm 0,17 ^b	5,57 \pm 0,29 ^c	6,11 \pm 0,22 ^c	6,50 \pm 0,18 ^d	6,92 \pm 0,16 ^e
K⁺ (mEq/L)	4,20 \pm 0,23 ^b	3,67 \pm 0,14 ^{ab}	3,23 \pm 0,09 ^a	3,98 \pm 0,16 ^b	3,93 \pm 0,13 ^b	3,76 \pm 0,14 ^b
Na⁺ (mEq/L)	137,46 \pm 2,86 ^c	133,88 \pm 2,16 ^c	122,00 \pm 1,18 ^a	129,12 \pm 1,99 ^b	131,15 \pm 1,65 ^{bc}	128,67 \pm 1,89 ^b
Mg⁺⁺ (mg/dL)	1,77 \pm 0,10 ^{ab}	2,33 \pm 0,09 ^{cd}	2,43 \pm 0,05 ^d	2,16 \pm 0,06 ^c	2,07 \pm 0,05 ^{bc}	1,87 \pm 0,04 ^a

Letras diferentes nas linhas representam diferença estatística entre os tempos de coleta ($p < 0,05$). Abreviações: C⁺⁺, Cálcio; Cl⁻, Cloreto; P, Fósforo; Mg⁺⁺, Magnésio; K⁺, Potássio; Na⁺, Sódio; mg/dL, miligramas por decilitro; mEq/L, miliequivalente por litro; h, horas de vida; d, dias de vida.

4. DISCUSSÃO

Esta é a primeira vez que parâmetros hematológicos e bioquímicos de neonatos Mangalarga Marchador foram avaliados durante a primeira semana de vida de potros hípidos. Esses dados servirão como referência para a raça. Além disso, foram utilizados analisadores portáteis e automatizados, com análises podendo ser realizadas em tempo real na fazenda (Accutrend® Plus e Accu-Chek® Active) ou em laboratórios clínicos (Abacus® e Smart 200+ Vet®).

A diminuição da contagem eritrocitária, Hct e Hb no primeiro dia de vida corrobora com pesquisas prévias em potros das raças Quarto de Milha, Puro Sangue Inglês, Andaluz e jumentos (Famarzi e Rich, 2019; Veronesi et al., 2014; Harley et al., 1984). As principais

hipóteses são redução na produção de eritrócitos, associado ao aumento na destruição, e hemodiluição (expansão do volume plasmático) (Harley et al., 1984; O'Brien e Pearson, 1971).

O ambiente intrauterino tem uma menor disponibilidade de oxigênio, conseqüentemente maiores níveis de eritropoetina e eritropoiese mais ativa (O'Brien e Pearson, 1971). Com o nascimento, há melhor oxigenação e aumento imediato do hematócrito levando a diminuição de eritropoetina e produção de eritrócitos. Essa maior oxigenação ocorre pela substituição da placenta pelo pulmão como fonte de oxigênio (Comline e Silver, 1974). O aumento do hematócrito acontece pelo deslocamento de sangue placentário antes da ruptura do cordão umbilical (Kitchen e Rossdale, 1975). Contudo, o potencial osmótico promovido pelas globulinas absorvidas, principalmente no primeiro dia de vida, e crescimento do potro levam a diminuição do Htc por hemodiluição (Barton e Hart, 2020). No presente estudo, foi observado maior Htc na coleta antes da primeira mamada e posterior diminuição, que pode ser atribuído a expansão plasmática em consequência da absorção de proteínas colostrais. Outro contribuinte para diminuição é destruição fisiológica dos eritrócitos, que possuem meia-vida menor quando comparado a adultos (Medeiros et al., 1982).

O Volume Corpuscular Médio (VCM) apresentou diminuição ao longo da primeira semana de vida, com valor médio aos 7 dias de vida menor que animais adultos da mesma raça (Melo et al., 2013). Apesar do menor valor, os valores de VCM continuaram dentro do intervalo de referência para neonatos na mesma faixa etária (Harvey, 1990). No decorrer dos primeiros meses de vida ocorre diminuição gradativa do VCM, que permanece com valores inferiores a animais adultos. Esta diminuição é fisiológica e está associada com a idade (Harvey, 1990; Harvey et al., 1984). A produção de células de menor tamanho pode ser atribuída as limitadas reservas de ferro e sua baixa concentração no leite materno, uma vez que a demanda neonatal é sustentada pelo ferro proveniente do leite, levando a uma deficiência relativa no potro (Harvey, 1990). Harvey e colaboradores (1987) observaram diminuição da concentração de ferro sérico e da capacidade de ligação total do ferro em neonatos equinos. Este fenômeno não leva a anormalidades clínicas e a administração de ferro nesse período não influencia os índices eritrocitários (Kohn et al., 1990).

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) manteve-se estável a partir das primeiras 24 horas de vida, assim como aconteceu com o número de eritrócitos, Hct e Hb. Entretanto, diferente dos demais parâmetros eritrocitários (contagem de eritrócitos, Hb, Hct e VCM), houve aumento quando comprado a coleta com <1 hora e com sete dias de vida, corroborando com Aoki e Ishii (2012). O aumento do CHCM, mesmo com diminuição na

contagem de eritrócitos e possível microcitose, é reflexo da baixa sensibilidade do CHCM em diferenciar padrões discretos de anemia, permanecendo com valores dentro do intervalo de referência (Tvedten, 2010). O valor ao final da primeira semana de vida representa maior concentração média quando comparado com adultos da mesma raça, porém de regiões diferentes (Melo et al., 2013). Como a elevação da CHCM é considerada artefato, uma vez que não é uma possibilidade fisiológica, reforça a necessidade de estabelecer parâmetros para as respectivas idades, regiões geográficas e sistemas de criação, bem como considerar fatores pré-analíticos e analíticos.

Para avaliação do grau de heterogeneidade dos eritrócitos utiliza-se o “*Red Blood Cell Distribution Width*” (RDW), ou amplitude de distribuição, que é uma medida quantitativa da variabilidade e diâmetro dessas células. O aumento no número de eritrócitos pequenos (microcitose) ou grandes (macrocitose) resultará em aumento do RDW. Porém, os dados são escassos para determinação de valores entre raças e diferentes idades. Quando comparado com dados de potros PSI (De Freitas et al., 2016) e mestiços Crioulos (Araujo et al., 2021) em tempos de coletas similares, o RDW-CV obtidos dos neonatos Mangalarga Marchador foi inferior aos demais. Entretanto, resultado similar foi evidenciado quando comparado com potros Quarto de Milha com menos de dois anos (Ramires et al., 2019). Os baixos valores apresentados representam população homogênea de eritrócitos, conferindo normalidade nas amostras avaliadas. Entretanto, variações entre raças, regiões e metodologia de análise reitera a necessidade de referências para esses animais.

A contagem de leucócitos totais na coleta com <1 hora de vida apresentou a menor média durante o período de análise. Na sequência houve aumento significativo nas primeiras 12 horas de vida, acompanhado principalmente por aumento médio de neutrófilos, corroborando com Curcio e Nogueira (2012). Essa característica é atribuída como resposta ao pico de cortisol que ocorre nas primeiras horas de vida (Silver et al., 1984), sendo importante marcador da atividade adrenocortical e maturidade do recém-nascido (Rossdale, 2004). Os glicocorticoides endógenos promovem maturação dos neutrófilos na medula óssea e favorecem sua mobilização para circulação (Cavalcanti et al., 2007).

Logo após o nascimento, os valores de linfócitos foram superiores aos neutrófilos, diferindo dos resultados de Harvey e colaboradores (1984) para as raças Quarto de Milha e PSI. A relação entre neutrófilos/linfócitos foi <1, porém, com 12 horas de vida já foi observado proporção >1:1. Embora a proporção neutrófilos/linfócitos <2 seja um dos achados sugestivos de prematuridade (Harvey et al., 1984), os animais do presente estudo não apresentaram as demais

características físicas, comportamentais e laboratoriais de neonatos prematuros ou dismaturos, bem como tempo gestacional (Rossdale et al., 1984). A quantidade de linfócitos maior que neutrófilos é identificada no feto, com posterior diminuição poucas horas depois do nascimento (Harvey, 1990). Quando comparado com outras raças, a contagem de linfócitos permaneceu maior nas primeiras 24 horas de vida, na sequência houve declínio permanecendo dentro da referência para neonatos (Harvey, 1990). O total de linfócitos encontrados no estudo se assemelha a descrição de Flaminio e colaboradores (1999), que observou potros da raça Quarto de Milha com média superior a 2.000 cel/ μ L ao nascimento. Os valores médios de monócitos e eosinófilos e ausência de bastonetes durante a primeira semana de vida, corroboram com dados anteriores para a mesma faixa etária (Harvey, 1990; Harvey et al., 1984).

A contagem de plaquetas permaneceu dentro do intervalo já descrito por Koterba et al., (1990) e apresentou média superior a animais adultos ($153 \pm 49 \cdot 10^3/\mu$ L) (Barton e Morris, 1995). A diminuição observada ao longo das análises pode ser atribuída ao consumo, destruição e/ou desvio de plaquetas da circulação. Mesmo com concentração maior, quando comparado a adultos, neonatos tem menor capacidade de agregação durante a primeira semana de vida. Essa menor responsividade é atribuída a fatores relacionados ao desenvolvimento da maturação plaquetária e adaptação endócrina pós-natal (Piccione et al., 2015; Strauss et al., 2011).

Diferente de pesquisas anteriores, a concentração de fibrinogênio sérico foi superior a neonatos na mesma faixa etária, porém similar a animais adultos e potros a partir do primeiro mês (Piccione et al., 2015; Wallace, 2014; Chrisman et al., 2008; Harvey, 1990; Harvey et al., 1984). Os dados corroboram com Feldman e colaboradores (1989), que observaram concentrações em recém-nascidos indistinguíveis de animais adultos. Contudo, as diferentes técnicas utilizadas nos ensaios podem explicar os diferentes resultados.

A concentração de creatinina sérica superior a referência para adultos após nascimento ($2,12 \pm 0,13$ mg/dL) é esperado nas primeiras horas de vida e não significa disfunção renal. Sua diminuição para valores em torno de 1,0 mg/dL, é frequentemente relacionado a amamentação e adequada hidratação (Bauer, 1990), bem como desenvolvimento do sistema de transporte e reabsorção renal (Becht e Semrad, 1985). A partir das 12 horas de vida, os valores caíram e se encontraram dentro da referência para adultos (0,9-2,0 mg/dL). A ureia seguiu perfil similar com valores mais altos que animais adultos no primeiro dia de vida e diminuição nas observações seguintes. A diminuição da concentração de ureia é associada ao aumento da demanda de aminoácidos para sínteses de proteínas estruturais e enzimática (Bauer, et al., 1984).

A menor concentração de PPT ao nascimento ($3,78 \pm 0,24$ g/dL) e posterior aumento após mamada é o resultado da absorção de proteínas colostrais. Durante o período de análise, a albumina se manteve estável, com valores similares a animais adultos. A elevação de PPT, mediada pelo aumento da globulina ($p < 0,05$), reflete a absorção de globulinas presentes no colostro, contudo, não deve ser interpretada como uma adequada transferência de imunidade passiva (ATIP). Para isso, deve-se quantificar imunoglobulinas G séricas nos recém-nascidos (Bauer, 1990). A concentração de média de IgG > 800 mg/dL (3.589 mg/dL) com 24 horas de vida representa eficiência no mecanismo de endocitose pelas células epiteliais do intestino delgado proporcionando uma ATIP (LeBlanc, 1990).

Os valores médios mais acentuados da bilirrubina total foram observados nos tempos 12 e 24 horas após o nascimento, com média de $3,11 \pm 0,2$ e $3,21 \pm 0,26$ mg/dL respectivamente. Esta elevação é consequência do aumento da bilirrubina indireta ou não-conjugada. Esse perfil é comum nos neonatos pelo menor tempo de vida dos eritrócitos, redução da captação hepatocelular de bilirrubina, diminuição da conjugação e aumento da capacitação intestinal de bilirrubina (Wong e Bhutani., 2014). A bilirrubina direta apresentou pequenas variações médias durante o período de análise, porém sem diferenças significativas quando comparado a primeira coleta.

A concentração sérica de GGT apresentou variações ao longo da primeira semana de vida, com maior média observada com 24 horas de vida ($39,31 \pm 2,38$ U/L). Os valores médios apresentaram discreta elevação quando comparado a animais adultos ($5-28$ UI/L), atribuído ao acúmulo de substratos de metabolismo intermediário e indução de enzimas hepáticas (Bauer, 1990). Diferente de neonatos ruminantes, o aumento de GGT sérica não se correlaciona com transferência de imunidade passiva adequada em potros, visto que estes animais tem maior capacidade seletiva de absorção de proteínas e baixa concentração disponível no colostro (Feijó et al., 2018; Patterson e Brown, 1986; Braun et al., 1984). A AST apresentou maior média sérica sete dias após nascimento ($221,12 \pm 7,55$ U/L), podendo ser atribuído ao aumento atividade muscular (Bauer, 1990).

Como os neonatos apresentam pequenas reservas de glicogênio hepático e ainda não tem fermentação adequada no intestino, os níveis de glicose séricos podem sofrer variações dependendo do estresse, frequência de mamadas e demandas (Bauer, 1990). A menor glicemia identificada foi logo após o nascimento, antes da primeira mamada (< 1 hora de vida), com valor médio de $62,90 \pm 3,99$ mg/dL. Nas coletas subsequentes, a glicemia apresentou valores médios superiores a animais adultos, resultado da adequada ingestão de leite.

A concentração sérica de lactato com média superior a animais adultos (<2 mmol/L) é um achado considerado normal para neonatos nas primeiras horas de vida. Maiores concentrações ($>4,9\pm 1,0$ mmol/L) são esperadas em recém-nascidos saudáveis, podendo permanecer com discreto aumento por alguns dias (Sheahan et al., 2016; Kitchen e Rossdale, 1975). O motivo não está bem esclarecido, porém como o lactato fetal apresenta valores similares a adultos, a maior concentração no neonato é atribuída a eventos do periparto combinados a função hepática reduzida e nível de atividade (Sheahan et al., 2016; Neil, 2008). A diminuição gradativa está associada a eliminação gradual e consumo do lactato através da conversão do piruvato para produção de energia (Souza e Elias, 2006). Esses achados realçam a importância da mensuração seriada ao invés de isoladas em animais recém-nascido (Castagnetti et al., 2010; Herderson et al., 2008).

As menores concentrações séricas de Na^+ e K^+ observadas com 24 horas de vida são atribuídas a hemodiluição, provocada pela absorção de proteínas colostrais e expansão plasmática (Bauer et al., 1984). Para ambos, a maior concentração foi identificada ao nascimento, com $137,46\pm 2,86$ e $4,20\pm 0,23$ mEq/L respectivamente. O fósforo inorgânico sérico apresentou elevação constante ao longo das análises, exibindo valores superiores a animais adultos ($4,5\pm 1,4$ mg/dL) com uma semana de vida. Bauer (1990) observou este aumento até os dois meses de idade e posterior declínio, no qual atribuiu ao metabolismo ósseo durante o crescimento. Em relação ao Cálcio e Magnésio, aos sete dias de vida foi observado valores similares ao nascimento, porém, com pico nas coletas com 72 e 24 horas de vida, respectivamente. Esse perfil de pequenas alterações já é esperado no período neonatal e ao longo do primeiro ano de vida (Bauer, 1999). A transferência placentária durante a gestação e, principalmente, adequado consumo de minerais por meio do colostro são importantes para manter os níveis adequados de eletrólitos depois do nascimento (Kume e Tanabe, 1993). Porém, as concentrações de eletrólitos séricos podem sofrer variações de acordo com a demanda depois do nascimento (Kume e Toharmat, 2001). Pequenas variações médias observadas quando comparado com neonatos de outras raças (Takahiro e Ishii, 2012; Bauer, 1990; Bauer et al., 1984), podem ser atribuídas a disponibilidade e/ou metabolismo pós-natal.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo é a primeira descrição da dinâmica nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e eletrolíticos, nos primeiros dias de vida de neonatos Mangalarga Marchador. Toda as características dos parâmetros apresentada pelos neonatos e suas diferenças com outras

raças, reforçam a necessidade de uso de intervalos de referência específicos para raças, idades e região geográfica. Os resultados contribuem para melhor interpretação da dados laboratoriais e avaliação de neonatos da raça MM.

6. REFERÊNCIAS

ABCCMM. Criação e Mercado do cavalo Mangalarga Machador. *Associação brasileira dos criadores de cavalo Mangalarga Marchador*, Belo Horizonte, 12 jan. 2018. Jornalismo ABCCMM. Disponível em: <http://www.abccmm.org.br/leitura?id=9057> Acesso em: 01 ago. 2022.

AOKI, T.; ISHII, M. Hematological and biochemical profiles in peripartum mares and neonatal foals (heavy draft horse). *J. Equine Vet. Sci.*, v. 32, n. 3, p.170-176, 2012.

AXON, J. E.; PALMER, J. E. Clinical pathology of the foal. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v. 24, n. 2, p. 357-385, 2008.

BARTON, M. H.; HART, K. A. Clinical Pathology in the Foal. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v. 36, n. 1, p. 73-85, 2020.

BARTON, M. H.; MORRIS, D. D.; CROWE, N. et al. Hemostatic indices in healthy foals from birth to one month of age. *J. Vet. Diagn. Investig.*, v. 7, n. 3, p. 380-385, 1995.

BAUER, J. E. Normal blood chemistry. In: KOTERBA, A.; DRUMMOND, W.; KOSCH, P. (Ed) *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1990. Cap. 27, p. 602–614.

BAUER, J. E.; HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L. et al. Clinical chemistry reference values of foals during the first year of life. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 4, p. 361-363, 1984.

BECHT, J. L.; SEMRAD, S. D. Hematology, blood typing, and immunology of the neonatal foal. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v. 1, n. 1, p. 91-116, 1985.

BOAKARI, Y. L.; ALONSO, M. A.; RICCIO, A. V. et al. Evaluation of Blood Glucose and Lactate Concentrations in Mule and Equine Foals. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 101, p. e103369, 2021.

BROMERSCHENKEL, I.; PORFÍRIO, L. C.; MARTINS, C. B. Uso do glicosímetro portátil para a mensuração da glicemia em potros neonatos da raça mangalarga marchador. *Acta Vet. Bras.*, v. 9, n. 4, p. 369-374, 2015.

BRAUN, J. P.; TAINTURIER, D.; BÉZILLE, P. et al. Transfer of gamma-glutamyltransferase from mother colostrum to newborn goat and foal. *Enzyme*, v. 31, n. 4, p. 193-196, 1984.

- CAVALCANTI, D. M., LOTUFO, C. M., BORELLI, P. et al. Endogenous glucocorticoids control neutrophil mobilization from bone marrow to blood and tissues in non-inflammatory conditions. *Br. J. Pharmacol.*, v. 152, p. 1291–1300, 2007.
- CASTAGNETTI, C.; PIRRONE, A.; MARIELLA, J. et al. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. *Theriogenology*, v. 73, p. 343–57, 2010.
- COMLINE, R. S.; SILVER, M. A comparative study of blood gas tensions, oxygen affinity and red cell 2, 3 DPG concentrations in foetal and maternal blood in the mare, cow and sow. *J. physiol.*, v. 242, n. 3, p. 805-826, 1974.
- CURCIO, B. R.; NOGUEIRA, C. E. W. Newborn adaptations and healthcare throughout the first age of the foal. *Anim. Reprod.*, v. 9, n. 3, p. 182-187, 2012.
- CRISMAN, M. V.; SCARRATT, W. K.; ZIMMERMAN, K. L. Blood proteins and inflammation in the horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v. 24, n. 2, p. 285-297, 2008.
- DE ARAUJO, L. O.; NOGUEIRA, C. E. W.; DALCIN, A. P. et al. Descrição dos valores da amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) em potros neonatos mestiços crioulos durante a primeira semana de vida. In: XVIII ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO/ 2ª SEMANA INTEGRADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO- Universidade Federal de Pelotas, 2016, Pelotas. *Anais...* Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2016.
- DE FREITAS, N. B.; CURCIO, B. D. R.; DOS SANTOS, I. P. O. et al. Avaliação dos parâmetros hematológicos de potros de risco nascidos a termo e prematuros. In: XXX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA/ 7ª SEMANA INTEGRADA- Universidade Federal de Pelotas, 2021, Pelotas. *Anais...* Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2021.
- DWYER, C. M. The welfare of the neonatal lamb. *Small Rum. Res.*, v.76, p.31-41, 2008.
- FANTINI, P.; PALHARES, M. S.; PRADES, M. et al. Criopreservação do plasma rico em plaquetas de equinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 68, p. 73-81, 2016.
- FARAMARZI, B.; RICH, L. Haematological profile in foals during the first year of life. *Vet. Rec.*, v. 184, n. 16, p. 503-503, 2019.
- FEIJO, L. S.; CURCIO, B. R.; PAZINATO, F. M. et al. Hematological and biochemical indicators of maturity in foals and their relation to the placental features. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 38, p. 1232–1238, 2018.

FELDMAN, B.; GENTRY, P.; O'NEIL, S. et al. Hemostatic analyte evaluation in the pre and postparturient mare and neonate. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, nº 34, 1989, San Diego, CA. *Proceedings...* San Diego: AAPE Annual Convention, 1989. p. 133-137.

GUIMARÃES, L. S. P.; HIRAKATA, V. N. 2012. Uso do Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas na análise de dados longitudinais. *Revista HCPA*, v. 32, n. 4, p. 503-511, 2012.

GRONDIN, T. M.; DEWITT, S. F. Normal hematology of the horse and donkey. In: WEISS, D. K.; WARDROP, K. J. (Ed.) *Schalm's Veterinary Hematology*, 6. Ed., Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. Cap. 106, p.821-828.

HARVEY, J. W. Introduction to Veterinary Hematology. In: _____. *Veterinary Haematology, A Diagnostic Guide and Colour Atlas*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2012. Cap. 1. p. 1-10.

HARVEY, J. W. Normal hematologic values. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMON, W. H.; KOSCH, P. C. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1990. Cap. 24. p. 561-570.

HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; MCNULTY, P. K. et al. Haematology of foals up to one year old. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 4, p. 347-353, 1984.

HARVEY, J. W.; ASQUITH, R. L.; SUSSMAN, W. A. et al. Serum ferritin, serum iron, and erythrocyte values in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v. 48, n. 9, p. 1348-1352, 1987.

HENDERSON, I. S.; FRANKLIN, R. P.; WILKINS, P. A. et al. Association of hyperlactatemia with age, diagnosis, and survival in equine neonates. *J. Vet. Emerg. Crit. Care*, v. 18, p. 496-502, 2008.

KITCHEN, H.; ROSSDALE, P. D. Metabolic profiles of newborn foals. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, v. 23, p. 705-707, 1975.

KOHN, C. W.; JACOBS, R. M.; KNIGHT, D. et al. Microcytosis, hypoferrremia, hypoferritemia, and hypertransferrinemia in Standardbred foals from birth to 4 months of age. *Am. J. Vet. Res.*, v. 8, p. 1198-1205, 1990.

KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. Perinatal Review. In: _____. *Equine neonatology medicine and surgery*. Tottenham, London: Saunders Ltd., 2004. Cap. 1, p. 1-27.

- KOTERBA, M. M. Physical Examination. In: KOTERBA A, DRUMMOND W, KOSCH P, (Ed.). *Equine clinical neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. Cap. 6, p. 71- 83.
- KUME, S.; TANABE, S. Effect of parity on colostral mineral concentrations of Holstein cows and value of colostrum as a mineral source for newborn calves. *J. Dairy Sci.*, v. 76, p. 1654-1660, 1993.
- KUME, S.; TOHARMAT, T. Electrolyte status and fecal consistency in newborn calves. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, v. 14, n. 5, p. 640-645, 2001.
- LeBLANC, A. M. Immunologic Considerations. In: KOTERBA A, DRUMMOND W, KOSCH P, (Ed.). *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. Cap. 16, p. 275-294.
- LOPES, P. R.; BATISTA, M. A.; SOARES, R. P. et al. Autohemotherapy increases phagocytic activity of neutrophils and promotes cytokine production by lymphocytes in horses. *Braz. J. Vet. Med.*, v. 43, n. 1, p. e000821, 2021.
- MADUREIRA, K. M.; GOMES, V.; BARCELOS, B. et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. *Semina: Ciênc. Agrár.*, v. 34, n. 2, p. 811–816, 2013.
- MEDEIROS, L. F.; MEDEIROS, L. O.; SANJURJO, B. Energy metabolism in the erythrocytes of thoroughbred horses connected with perinatal physiological hemolysis. *Comp. Biochem. Physiol. Part B, Comp. biochem.*, v. 71, n. 3, 541-544, 1982.
- MELO, S. K. M.; LIRA, L. B. D.; ALMEIDA, T. L. A. C. D. Hematological parameters and blood biochemistry in pleasure horses in tropical region. *Cienc. Anim. Bras.*, v. 14, n. 2, 208-215, 2013.
- MILLAR, H. R.; SIMPSON, J. G.; STALKER, A. L. An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. *J. Clin. Pathol.*, v. 24, p. 827-830, 1971.
- MORUZZI, M. M.; OROZCO, C. A. G.; MARTINS, C. B. et al. Estudo de parâmetros hematológicos de potros da raça puro sangue árabe. *Ars Vet.*, v. 23, p. 129-133, 2007.
- NEIL, K. How to use lactate in equine practice. *The Australian Equine Veterinarian*, v. 4, 34-48, 2008.
- O'BRIEN, R. T.; PEARSON, H. A. Physiologic anaemia of the newborn infant. *J. Pediat.* v. 79, p. 132-138, 1971.

- PATTERSON, W. H.; BROWN, C. M. Increase of serum gamma-glutamyltransferase in neonatal Standardbred foals. *Am J Vet Res*, v. 47, n. 11, p. 2461-2473, 1986.
- PICCIONE, G.; ARFUSO, F.; QUARTUCCIO, M. et al. Age-related developmental clotting profile and platelet aggregation in foals over the first month of life. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 35, n. 2, p. 89-94, 2015.
- RAMIRES, L. M.; MONTEIRO, F. N. B.; ISHIDA, A. C. et al. Red Blood Cell Distribution Width in Quarter Horses: A Comparison Between Healthy and Hospitalized Animals. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 73, p. 127-130, 2019.
- RIBEIRO, R. A.; SOUZA, F. A. C.; MUNIZ, J. A. et al. Curva de crescimento em altura na cernelha de equinos da raça Mangalarga Marchador considerando-se heterocedasticidade. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 70, p. 272-278, 2018.
- ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue: Noções práticas sobre corantes pancrônicos e estudos de diversos fatores. *Mem. Inst. Butantan*, v.20, p. 315-328, 1947.
- ROSSDALE, P. D. 2004. The maladjusted foal: influence of intrauterine growth retardation and birth trauma. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 2004, Denver, CO. *Proceedings...* Denver: AAPE 50th Annual Convention, 2004. p. 75-126.
- ROSSDALE, P. D.; OUSEY, J. C.; SILVER, M. et al. Studies on equine prematurity 6: guidelines for assessment of foal maturity. *Equine Vet. J.*, v. 16, n. 4, p. 300-302, 1984.
- SANTOS, F. C. C.; FEIJÓ, L. S.; KASINGER, S. et al. Hematologic values of thoroughbred foals from birth to six months of age. *Cienc. Anim. Bras.*, v. 15, p.307-312, 2014.
- SHEAHAN, B. J.; WILKINS, P. A.; LASCOLA, K. M. et al. The area under the curve of L-lactate in neonatal foals from birth to 14 days of age. *J. Vet. Emerg. Crit. Care*, v. 26, n. 2, 305-309, 2016.
- SILVER, M.; OUSEY, J. C.; DUDAN, F. E. et al. Studies on equine prematurity 2: postnatal adrenocortical activity in relation to plasma adrenocorticotrophic hormone and catecholamine levels in term and premature foals. *Equine Vet. J.*, v. 16, p. 278-286, 1984.
- SLOVIS, N. M.; BROWNE, N.; BOZORGMANESH, R. Point-of-care diagnostics in equine practice. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v. 36, n. 1, p. 161-171, 2020.

STRAUSS, T.; SIDLIK-MUSKATEL, R.; KENET, G. Developmental hemostasis: primary hemostasis and evaluation of platelet function in neonates. *Semin. Fetal Neonatal Med.*, v. 16, n. 6, p. 301-304, 2011.

TVEDTEN, H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. *Schalm's Veterinary Hematology*, 6. Ed., Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. cap. 24, p. 152- 161.

VERONESI, M. C.; GLORIA, A.; PANZANI, S. et al. Blood analysis in newborn donkeys: hematology, biochemistry, and blood gases analysis. *Theriogenology*, v. 82, n. 2, p. 294-303, 2014.

VIEIRA, G. S. A.; PALUDO, G. R.; RAMOS, A. F. et al. Fetal development and blood hematological-biochemical parameters in Campeiro and Pantaneiro foals. *Anim. Reprod.*, v. 15, n. 1, p. 39, 2018.

ULUISIK, D.; KESKIN, E.; OZAYDIN, T. Age and gender related changes in hematological parameters of thoroughbred foals. *Biotech Histochem.*, v. 88, n. 6, p. 345-349, 2013.

WALLACE, K. Proteins. In: WALTON, R. M. (Ed.) *Equine Clinical Pathology*. Iowa, USA: John Wiley e Sons, 2014. Cap. 7, p. 119-130.

WONG, R. J; BHUTANI, V. K. Pathogenesis and etiology of unconjugated hyperbilirubinemia in the newborn. In: ABRAMS, S. A.; RAND, E. B. (Ed.) *UpToDate*. Waltham, MA: UpToDate Inc. 2014. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/unconjugated-hyperbilirubinemia-in-the-newborn-pathogenesis-and-etiology>. Acesso em: 03 ago. 2022.

CAPÍTULO V

AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA E CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS SÉRICAS EM POTROS MANGALARGA MARCHADOR

Resumo

Devido as características placentárias na espécie equina, não há passagem de imunoglobulina pelos mecanismos de transporte placentário. Dessa forma, os potros nascem agamaglobulinêmicos e dependem da ingestão e absorção de colostro de boa qualidade, para que ocorra adequada transferência de imunidade passiva. O objetivo desse trabalho é avaliar a qualidade do colostro ingerido por potros Mangalarga Marchador e a transferência de imunidade passiva na raça. Foram acompanhados 28 potros da raça Mangalarga Marchador do nascimento ao final da primeira semana de vida, avaliando-se a qualidade do colostro ingerido, concentração sérica de proteínas e exame físico durante todo esse período. Foi aplicado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney para avaliação da coloração do colostro e correlação Spearman para avaliar associação entre pares de variáveis quantitativas. O tempo médio gestacional dos animais avaliados foi de 337 ± 12 dias e as características comportamentais e físicas ao nascimento foram consideradas normais para a espécie. As amostras de colostro apresentaram coloração amarelo ou branca em 78,5% e 21,5%, respectivamente. A média do grau de BRIX das amostras de colostro foi de $26,8 \pm 4,4\%$, que corresponde a boa qualidade. Não houve correlação significativa entre a coloração do colostro e grau BRIX ($p > 0,05$). Os neonatos apresentaram adequada transferência de imunidade passiva, com média de imunoglobulinas G (IgG) de $3.589,25 \pm 878,48$ mg/dL com 24 horas de vida. Não houve correlação entre a concentração sérica de IgG dos neonatos e grau de BRIX (%) do colostro ingerido ($p > 0,05$). A concentração de IgG com 24 horas de vida apresentou correlação positiva de moderada a forte com a concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT), analisada por analisador bioquímico ($r = 0,69$, $p < 0,001$) e refratometria ($r = 0,82$, $p < 0,001$), e correlação moderada com globulinas ($r = 0,66$, $p < 0,001$). Houve aumento significativo de PPT e globulinas entre as coletas antes de mamar e após 24 horas de vida ($p < 0,001$). Observou-se correlação positiva entre os dois métodos de mensuração de proteínas plasmáticas totais, a refratometria e análise bioquímica ($r = 0,86$, $p < 0,001$). A adequada transferência de imunidade passiva apresentada pelos animais é reflexo da ingestão e absorção de colostro em quantidade e qualidade adequados, ausência de afecções neonatal e tempo apropriado para mamar. A correlação positiva apresentada entre a concentração sérica de IgG com PPT torna esses métodos alternativas para triagem de animais. A ausência de correlação entre graus de BRIX do colostro e IgG sérico nos neonatos torna a avaliação apenas do colostro imprecisa para prever se haverá transferência de imunidade adequada.

Palavras-chave: Imunoglobulina. Potros. Colostro. Imunodifusão radial.

Abstract

The equine placenta has intrinsic characteristics that do not permit the transportation of immunoglobulin during gestation. Thus, foals are born agammaglobulinemic and depend on the ingestion and absorption of good quality colostrum to have an adequate transfer of passive immunity. The aim of this work is to evaluate the quality of the colostrum ingested by Mangalarga Marchador foals and the transfer of passive immunity in the breed. Twenty-eight Mangalarga Marchador foals were evaluated from birth to the end of the first week of life and the quality of the colostrum, serum protein concentration and physical examination parameters were monitored throughout this period. The non-parametric Mann-Whitney test was used to assess colostrum color and Spearman correlation to assess the association between pairs of quantitative variables. The average gestational period of the evaluated animals was 337 ± 12 days and the behavioral and physical characteristics at birth were considered normal for the species. Colostrum samples were yellow or white in 78.5% and 21.5%, respectively. The mean BRIX degree of the colostrum samples was $26.8 \pm 4.4\%$, which corresponds to good quality colostrum. There was no significant correlation between colostrum color and BRIX grade ($p > 0.05$). The neonates showed adequate transfer of passive immunity, with an average of immunoglobulins G (IgG) of $3,589.25 \pm 878.48$ mg/dL at 24 hours of life. There was no correlation between serum IgG concentration in neonates and BRIX degree (%) of the ingested colostrum ($p > 0.05$). The concentration of IgG at 24 hours of life showed a moderate to strong positive correlation with the concentration of total plasma proteins (TPP) analyzed by biochemical analyzer ($r = 0.69$, $p < 0.001$) and by refractometry ($r = 0.82$, $p < 0.001$) and a moderate correlation with globulins ($r = 0.66$, $p < 0.001$). There was a significant increase in PPT and globulins between collections before suckling and after 24 hours of life ($p < 0.001$). A positive correlation was observed between the two methods for measuring total plasma proteins (refractometry and biochemical analysis) ($r = 0.86$, $p < 0.001$). The adequate transfer of passive immunity observed in the study reflects the ingestion and absorption of colostrum in adequate quantity and quality, absence of neonatal diseases and appropriate time for suckling. The positive correlation observed between serum IgG concentration and PPT makes these methods alternatives for screening failure of passive transfer. The absence of correlation between colostrum BRIX grades and serum IgG in neonates demonstrate that the evaluation of colostrum alone is inaccurate to predict whether there will be adequate transfer of immunity.

Keywords: Immunoglobulin. Foals. Colostrum. Radial immunodiffusion.

1. INTRODUÇÃO

Embora a placenta equina seja capaz de transferir diversas substâncias da circulação materna para a fetal, moléculas de alto peso molecular, como imunoglobulinas, não são transferidas pelos mecanismos de transporte placentário (Borghesi et al., 2014). Com isso, os potros nascem agammaglobulinêmicos e dependem da ingestão e absorção de colostro de boa qualidade, para que ocorra adequada transferência de imunidade passiva (ATIP) (Mariella et al., 2017). A ATIP

nos recém-nascidos equinos tem papel essencial no suporte contra patógenos nas primeiras semanas de vida (Tizard, 2013).

A eficácia da transferência passiva de anticorpos via colostro pode ser confirmada através da avaliação da concentração sérica de imunoglobulina G (IgG) no potro, que reflete a quantidade e qualidade do colostro ingerido nas primeiras horas de vida, além da habilidade do neonato em absorver os anticorpos (Jeffcott, 1974). Contudo, antes mesmo da avaliação sérica de imunoglobulinas nos neonatos é possível avaliar o colostro e inferir sobre sua qualidade e potencial para transferência adequada para o potro. Uma das formas mais comuns e de maior praticidade na avaliação colostro equinos é pela análise dos sólidos dissolvidos, obtida por meio da refratometria de BRIX, além da avaliação de suas características físicas (coloração e consistência) e volume (Leblanc et al., 1992; Massey et al., 1991).

A concentração sérica de imunoglobulinas em neonatos, para promover proteção contra infecções, dependerá de fatores relacionados ao patógeno, indivíduo e ambiente (McGuire et al., 1975). De forma geral, concentrações séricas nos neonatos maiores que 800 mg/dL de IgG é considerado ATIP, enquanto concentrações de IgG entre 400-800 mg/dL e menores que 400 mg/dL são consideradas falha parcial e falha total de transferência, respectivamente (Tyler-McGowan et al., 1997; Koterba et al., 1984). Dentre os métodos de avaliação da concentração sérica de IgG, a imunodifusão radial é considerado o teste de referência. Entretanto, possui desvantagem quanto aos equipamentos necessários e tempo para obter os resultados. Dessa forma, busca-se a utilização de métodos mais rápidos, resultados objetivos e que se correlacionem fortemente com o “padrão ouro” (Davis e Giguère, 2005).

Mesmo com a raça Mangalarga Marchador (MM) compreendendo a maior parte do rebanho equino do estado de Minas Gerais e do Brasil, dados específicos sobre a raça ainda são escassos. A maioria dos dados relacionados a transferência de imunidade passiva concentram-se nas raças Puro Sangue Inglês e Quarto de Milha, não havendo descrição de IgG sérica em animais recém-nascidos MM. O objetivo desse trabalho é avaliar qualidade do colostro ingerido por potros Mangalarga Marchador e sua capacidade de transferência de imunidade passiva avaliada por imunodifusão radial e sua correlação com testes alternativos, como proteínas plasmática total e globulinas séricas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Seleção dos animais

Foram avaliados 28 potros da raça Mangalarga Marchador (16 machos e 12 fêmeas) durante a primeira semana de vida, provenientes de haras registrado na Associação brasileira de criadores de cavalos Mangalarga Marchador (ABCCMM), no município de Curvelo, Minas Gerais, Brasil, latitude S 18°44'37" longitude O 44°26'48". A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA/UFMG (protocolo 374/2019).

Durante a gestação, as éguas foram mantidas em piquete maternidade com disponibilidade de volumoso, água e sal mineral. Os animais nasceram durante a temporada de reprodução 2020 e 2021 (novembro a fevereiro). Após o nascimento, os neonatos foram avaliados quanto ao comportamento e interação materna, que inclui tempo para ficar em posição esternal, reflexo de sucção, tempo para ficar em estação e primeira mamada (Curcio e Nogueira, 2012; Koterba, 1990). Realizou-se exame físico diário nos potros (inspeção geral, peso, temperatura retal, avaliação do sistema cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, neurológico, musculoesquelético e urogenital (Koterba, 1990)), do nascimento ao final da primeira semana de vida. Somente os potros provenientes de parto eutócico, sem alterações macroscópicas placentárias e comportamento normal após o nascimento foram incluídos nas análises.

2.2 Coletas das amostras e análises

Após higienização da glândula mamária, foi coletado 20mL de colostro em tubos descartáveis para avaliação imediata quanto a coloração e graus BRIX (Brasil et al., 2016; Chavatte et al., 1998). As amostras foram colhidas nas primeiras 2 horas após o parto, antes do recém-nascido mamar, e avaliadas quanto aos aspectos físicos de coloração e viscosidade e grau de BRIX. A coloração foi definida por inspeção direta da amostra e o grau de BRIX por refratometria óptica. O grau de BRIX foi mensurado utilizando-se o refratômetro para colostro equino ARS® (Animal Reproductions Systems, Chino, California, EUA) com amplitude de graduação de 0 a >30%. Para a avaliação foram colocadas duas gotas de colostro na superfície prisma do refratômetro, em seguida a placa de luz foi fechada espalhando o colostro na superfície. A avaliação é feita através da ocular, por meio da localização do nível da cor azul na escala (0 a >30%), com o refratômetro contra a fonte de luz. O grau de BRIX é relacionado com a qualidade do colostro: <15% qualidade ruim (0-28 g/dL IgG), 15-20% razoável (28-50 g/dL IgG), 20-30% boa (50-80 g/dL IgG) e >30% muito boa (>80 g/dL IgG) (Knottenbelt et al., 2004).

Nos neonatos foram realizadas coletas de sangue antes da primeira mamada e com 24 horas de vida. As amostras foram obtidas por venopunção da jugular, utilizando-se agulhas 25 x 0,7mm em tubos de 10mL à vácuo sem anticoagulante. Após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 3000 rpm para obtenção do soro. As amostras foram congeladas a -20°C para posterior análise (Neto et al., 2018). Foram mensuradas Imunoglobulinas G, globulinas e proteínas totais.

A quantificação de proteínas totais foi realizada nas amostras antes da primeira mamada e na coleta com 24 horas de vida. A mensuração foi realizada por dois métodos, a refratometria óptica (ITREF-100®, Instrutemp Instrumentos de Medição Ltda, Belenzinho, SP, Brasil) (Elsohaby et al., 2019) e analisador bioquímico automático (Smart 200+ Vet®, Biotécnica, Varginha/MG- Brasil) utilizando-se kits comerciais (Biotécnica Indústria e Comércio Ltda, Varginha, MG, Brasil) (Lopes et al., 2021). Logo após a centrifugação e separação do soro, foi realizada a mensuração de proteínas totais por meio de refratometria óptica. Colocou-se 300µl de soro na superfície prisma, na sequência a placa de luz é fechada e a leitura é feita contra a fonte de luz. O valor de proteínas totais é observado pela linha azul formada entre as linhas da escala (0-12 g/dL).

A concentração de proteínas totais (g/dL) foi determinada utilizando-se analisador bioquímico automático pelo método do Biureto (kit Biotécnica Proteína Total VET®) e Albumina (g/dL) pelo método do verde de Bromocresol (kit Biotécnica Albumina Sérica VET®) nas amostras de soro dos neonatos. A determinação da concentração de globulina total sérica foi baseada na subtração da albumina da concentração de proteína total, seguindo a fórmula: Concentração de Globulinas (g/dL) = Concentração de Proteínas Totais (g/dL) – Concentração de Albumina Sérica (g/dL) (Neto, et al., 2018).

A quantificação de imunoglobulinas G (IgG) foi avaliada apenas nas amostras com 24 horas de vida. A técnica utilizada foi imunodifusão radial (IDR) utilizando-se testes comerciais (Radial Immunodiffusion Test of Equine IgG®, Triple J Farm, Bellingham, WA, USA), seguindo-se as recomendações do fabricante (preenchimento do poço da placa com 5µ do soro obtidos da centrifugação da amostra, seguidos de incubação a temperatura de 20-24 °C por 24 horas). Em cada placa teste foram utilizados 3 soros referência fornecidos pelo fabricante, com quantidade de imunoglobulinas G pré-determinadas. Durante o período de incubação, todos os poços da placa que foram adicionadas amostras de soro formaram halos de precipitação ao redor. Todos os halos foram mensurados (mm) por meio de paquímetro manual digital (MTX®, Tools World, Guarulhos, SP, Brasil). Utilizando-se o Microsoft Office Excel®, foi produzido curva-

padrão relacionando os diâmetros dos halos obtidos pelas amostras referência e amostras dos neonatos. Baseado na fórmula de regressão linear ($Y=A+BX$, onde Y corresponde a concentração de IgG, A é o coeficiente linear, B é o coeficiente angular e X o diâmetro do halo) obtida pela curva padrão, foram calculadas as concentrações de IgG das amostras dos neonatos equinos.

2.3 Análise estatística

Na avaliação da coloração do colostro aplicou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney para verificar possíveis diferenças nas amostras. A correlação não paramétrica de Spearman foi utilizada para avaliar (ou quantificar) a força da associação entre pares de variáveis quantitativas. Escolheram-se as distribuições de probabilidade apropriadas para cada variável resposta. Após o ajuste do modelo, testaram-se os efeitos dos grupos, do tempo e da interação de forma global (overall) e calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada tratamento para cada tempo.

3. RESULTADOS

Todos os neonatos foram provenientes de parto eutócico e sem necessidade de indução. O tempo médio gestacional foi de 337 ± 12 dias, com neonatos apresentando peso médio ao nascimento de $32,24\pm 3,85$ Kg. Na avaliação comportamental pós-nascimento, foi observado o tempo médio para assumir a postura de decúbito esternal de $11,16\pm 3,17$ minutos, estação $26,07\pm 8,36$ minutos, reflexo de sucção nos primeiros 15 minutos e primeira mamada $47,23\pm 10,47$ minutos. Durante a primeira semana de vida nenhum dos animais apresentou sinais clínicos de afecções.

Todas as progenitoras avaliadas apresentaram grau de desenvolvimento da glândula mamária e volume adequado de colostro no momento do parto. Para coleta do colostro apenas a contenção física foi suficiente. As amostras apresentaram consistência líquida e coloração branca ou amarela. A coloração amarela esteve presente em 78,5% das amostras e 21,5% apresentaram coloração branca. Embora todas as amostras tenham apresentado a característica de viscosidade, amostras de coloração amarela exibiram viscosidade mais intensa. A média de graus BRIX foi $26,8\pm 4,4\%$, que é correlacionada a boa qualidade do colostro. Não houve correlação significativa entre a coloração do colostro e grau BRIX ($p>0,05$) (Fig. 6).

Na avaliação da transferência de imunidade passiva por meio de IDR, os neonatos apresentaram média de $3.589,25 \pm 878,48$ mg/dL de IgG com 24 horas de vida (Tab. 11). Não houve correlação significativa entre a concentração sérica de IgG dos neonatos e grau de BRIX (%) do colostro ingerido ($p > 0,05$) (Fig.6).

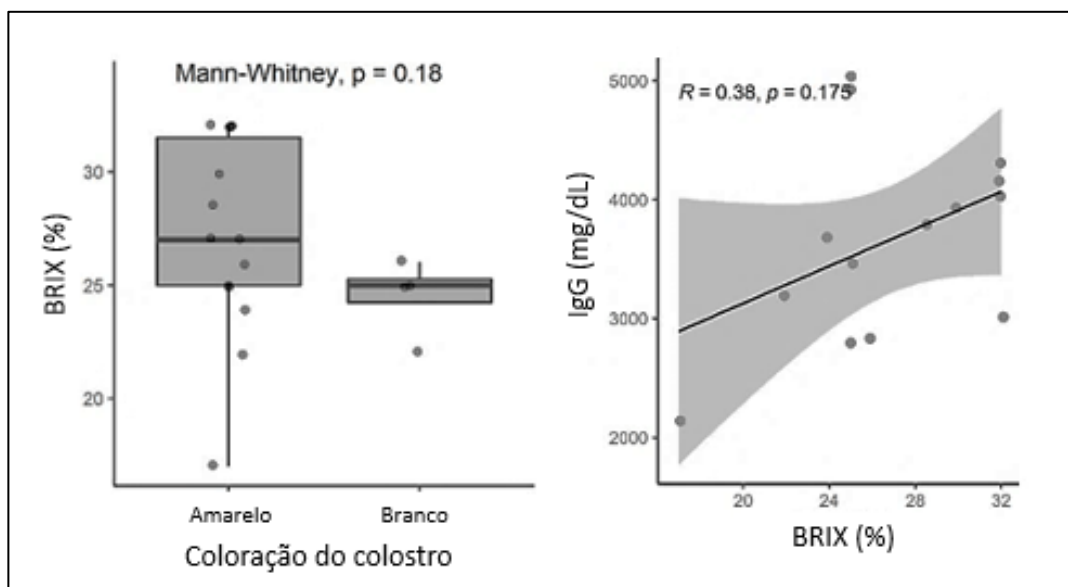


Figura 6. Gráfico em diagrama de caixa estratificado (esquerda) para representação da variação do grau de BRIX (%) nas amostras de colostro de coloração amarela e branco provenientes de éguas no pós-parto imediato. Gráfico de dispersão (direita) com os valores da correlação de Spearman (R) e o seu respectivo valor p (p) para concentração sérica de IgG (mg/dL) em neonatos Mangalarga Marchador e graus de BRIX (%) do colostro ingerido. Abreviações: IgG, imunoglobulinas G; mg/dL, miligramas por decilitro.

Os neonatos apresentaram aumento na concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT) e globulinas comparando-se a amostra antes da primeira mamada e a amostra com 24 horas de vida ($p < 0,001$). Não houve diferença na concentração de albumina entre as coletas ($p > 0,05$) (Tab. 7). A concentração de IgG com 24 horas de vida apresentou correlação positiva de moderada a forte com a concentração de PPT ($r = 0,69$, $p < 0,001$) e globulinas ($r = 0,66$, $p < 0,001$) (Fig. 7).

Tabela 7: Concentração média de proteínas séricas (média \pm erro padrão) e diferença entre coletas para proteínas plasmática total, globulina e albumina obtidas utilizando analisador bioquímico no primeiro dia de vida, e imunoglobulinas G obtidas por meio de imunodifusão radial com 24 horas de vida, em potros Mangalarga Marchador. Os tempos descritos representam os tempos de coletas.

	Tempo de vida		<i>p</i>
	<1h	24h	
PPT (g/dL)	4,89 \pm 0,17 ^a	6,70 \pm 0,15 ^b	<0,001
Globulina (g/dL)	0,62 \pm 0,30 ^a	2,98 \pm 0,2 ^b	<0,001
Albumina (g/dL)	3,23 \pm 0,23 ^a	2,98 \pm 0,14 ^a	>0,05
IgG (mg/dL)	---	3.589,25 \pm 878,48*	

Letras diferentes nas linhas representam diferença estatística entre os tempos de coleta. Abreviações: PPT, proteína plasmática total; IgG, imunoglobulina G; g/dL, grama por decilitro; mg/dL, miligrama por decilitro; h, horas de vida; *p*, valor de *p*; * média \pm desvio padrão.

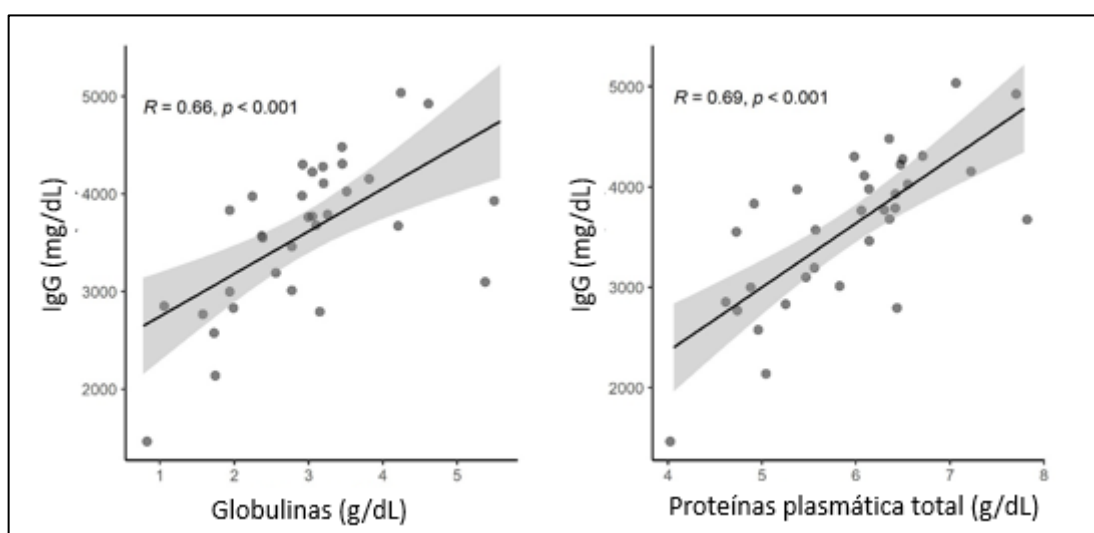


Figura 7. Gráfico de dispersão com os valores da correlação de Spearman (*R*) e o seu respectivo valor *p* (*p*) para concentração sérica de IgG (mg/dL) em relação a Globulinas (g/dL) (esquerda) e Proteínas plasmática total (g/dL) (direita) em neonatos Mangalarga Marchador. Abreviações: mg/dL, miligramas por decilitros; g/dL, gramas por decilitros; IgG, imunoglobulinas G.

A mensuração de proteína plasmática total pelo método de refratometria, apresentou média de 5,95 \pm 0,15 g/dL com 24 horas de vida. Em comparação aos dois diferentes métodos de mensuração de PPT, refratometria e análise bioquímica, houve correlação positiva forte ($r=0,86$, $p<0,001$) identificada na coleta com 24 horas de vida. Além disso, foi possível identificar correlação positiva forte entre a concentração de IgG e PPT utilizando refratometria ($r=0,82$, $p<0,001$) com 24 horas de vida nos neonatos (Fig. 8).

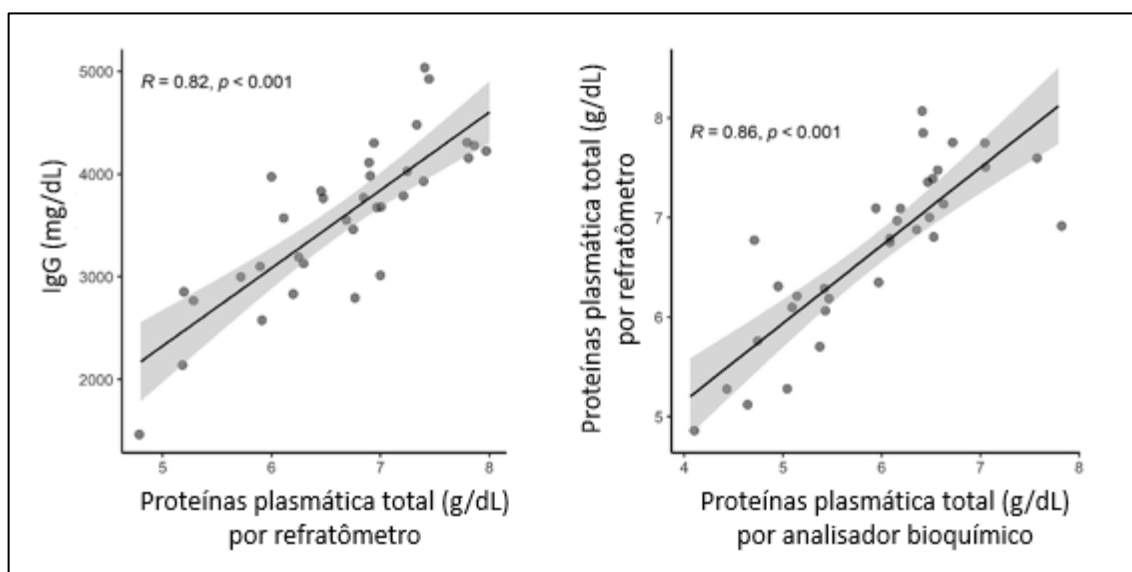


Figura 8. Gráfico de dispersão com os valores da correlação de Spearman (R) e o seu respectivo valor p (p) para concentração sérica de IgG (mg/dL) em relação a PPT utilizando o refratômetro óptico (g/dL) (esquerda) e correlação da concentração de PPT (g/dL) utilizando o refratômetro óptico e analisador bioquímico (direita) em neonatos Mangalarga Marchador. Abreviações: mg/dL, miligramas por decilitros; g/dL, gramas por decilitros; IgG, imunoglobulinas G.

4. DISCUSSÃO

O tempo gestacional no momento do parto, associado a características físicas e comportamentais dos neonatos, representam parâmetros que são usados na determinação de viabilidade neonatal e maturidade. O tempo médio gestacional de 337 ± 12 dias e peso médio ao nascimento de $32,24 \pm 3,85$ kg são considerados normais para a raça (Dias et al., 2017; Santos et al., 2005). Estas características associadas ao perfil comportamental pós-nascimento, que inclui interação materna, tempo para levantar e mamar, constituem aspectos importantes para ingestão e absorção do colostro e, conseqüentemente, transferência de imunidade (LeBlanc et al., 1992; LeBlanc, 1990). O tempo necessário para assumirem postura de decúbito esternal, estação, reflexo de sucção e primeira mamada são descritos como normais para a espécie equina (Stoneham, 2006).

Além do nascimento de potros sem alterações clínicas, os recém-nascidos apresentaram ingestão de colostro antes das primeiras duas horas após o nascimento ($\bar{x} 47,23 \pm 10,47$ minutos). Tais características são descritas como fundamentais para que haja adequada transferência de imunidade passiva (ATIP) ($\text{IgG} > 800 \text{mg/dL}$). O tempo até a primeira mamada tem papel crucial na absorção de imunoglobulinas, graças a maior absorção acontecer imediatamente após o nascimento, com declínio para 22% da sua capacidade com 3 horas de vida (Jeffcott, 1971).

Como os neonatos equinos nascem agamaglobulinêmicos, dependem da ingestão e absorção de colostro para que ocorra ATIP e seja conferida proteção imunológica (Mariella et al., 2017). Entretanto, mesmo com ingestão no período ideal, a concentração inadequada de IgG e/ou baixo volume do colostro podem representar riscos na transferência (Morresey, 2005; LeBlanc, 1990).

O colostro foi avaliado utilizando critérios subjetivos, coloração e aspecto, e por grau de BRIX (%) que possui alta especificidade e acurácia (Chavatte et al., 1998; LeBlanc, 1990). Sua avaliação deve ser sempre realizada para se determinar a necessidade de suplementação com colostro e/ou utilização de plasma hiperimune nos neonatos (Tennent-Brown, 2011; LeBlanc, 1990). Embora seja descrito que a coloração amarela esteja correlacionada com alta concentração de IgG e coloração branca com baixa qualidade, esse não deve ser o único critério analisado. A coloração branca do colostro é descrita como transição de colostro para leite, consequentemente diminuição de sua qualidade (Chavatte et al., 1998; LeBlanc, 1990). Porém, como foi observado no presente estudo não houve diferença ($p > 0,05$) no grau de BRIX quando comparado as duas colorações, diferindo dos achados de Chavatte et al, (1998). Devido a subjetividade da avaliação quando utilizado o parâmetro de coloração, seu uso pode levar a interpretações enganosas. Outro parâmetro indicador de boa qualidade é a viscosidade, que esteve presente em todas as amostras (Drogoul et al., 2006; LeBlanc, 1990). Esta característica é atribuída aos componentes proteicos, gorduras e matéria seca presentes em maior quantidade no colostro quando comparado ao leite (Cosentino et al., 2017), porém também tem caráter subjetivo.

Avaliando o grau de BRIX nas amostras, foi possível determinar sua boa qualidade ($\bar{x} 26,8 \pm 4,4\%$) (Knottenbelt et al., 2004). A alta correlação entre o grau de BRIX e concentração de IgG no colostro torna o uso de refratômetro de BRIX aplicável na rotina (Bielmann et al., 2010; Cash, 1999). Outras vantagens do uso do refratômetro de BRIX é seu fácil manuseio, repetibilidade, reutilização imediata após lavagem com água destilada e secagem, e baixo volume para o teste. A refratometria parte do princípio que qualquer solução contendo sólidos irá refratar os raios de luz. Com isso, o refratômetro mensura o desvio (refração) dos raios de luz quando penetram na amostra de colostro (Chavatte et al., 1998). Entretanto, o refratômetro usado para avaliação de proteínas plasmáticas totais não tem aplicação para avaliação do colostro devido a escala de mensuração ser menor do que o necessário. Enquanto, o colostrômetro é outra opção descrita, porém sua natureza sensível a temperatura, design frágil, maior volume de colostro necessário e maior margem de erros na classificação, tornam uma

ferramenta menos desejada para avaliação nos equinos (Chavatte et al., 1998; Mechor et al., 1992).

No presente estudo, o grau de BRIX do colostro não se correlacionou com o nível sérico de IgG ($p > 0,05$) corroborando com achados de Kenzig et al, (2009) e Unaniam et al, (1995). Por mais que a qualidade do colostro e o tempo para mamar estejam dentro do esperado, não é possível prever se houve adequada transferência de imunidade passiva, pois a quantidade sérica de IgG irá depender do seu nível de absorção. A ATIP nos animais avaliados, representada pela concentração média de $3.589,25 \pm 878,48$ mg/dL de IgG com 24 horas de vida, é reflexo não apenas da ingestão de colostro em quantidade, qualidade e tempo adequado, mas também da capacidade de absorção intestinal (LeBlanc, 1990). Nos animais avaliados, a quantidade ingerida foi o único parâmetro que não pode ser mensurado. A absorção de macromoléculas, como imunoglobulinas, é realizada pelo epitélio intestinal por endocitose, processo onde há passagem sem degradação dessas proteínas (Jeffcott, 1971). Nos neonatos equinos, a absorção das proteínas é seletiva com maior absorção de IgG e IgM, enquanto IgA permanece principalmente no intestino (Tizard, 2018). No entanto, condições como prematuridade ou doenças neonatais podem diminuir a absorção pelo epitélio intestinal e culminar em baixa concentração sérica de IgG (Curcio e Nogueira, 2012; LeBlanc, 1990). O consumo de colostro em volume e qualidade adequados, primeira mamada dentro das primeiras 2 horas, associado a ausência de afecções contribuíram para uma adequada transferência de imunidade nos animais avaliados.

O tempo escolhido para avaliação da transferência de imunidade (24 horas de vida) foi atribuído a característica de absorção de imunoglobulinas se limitar ao tempo máximo de 18-24 horas após o nascimento (Jeffcott, 1972; Jeffcott, 1974a; Jeffcott, 1974b). Nesse período, os níveis de IgG séricos atingem sua máxima concentração, no qual concentrações maiores que 800 mg/dL representam ATIP. Após cessar absorção, esses anticorpos adquiridos diminuem gradativamente graças aos processos metabólicos normais. As imunoglobulinas absorvidas pelo colostro possuem meia-vida por volta dos 26 dias (Lavoie et al., 1989), porém sua diminuição relativa é proporcional a quantidade inicial de imunoglobulinas absorvidas. Com isso, maiores concentrações de IgG absorvidas via colostrado manterão níveis adequados por mais tempo (Talmadge, 2016; Flaminio e Talmadge, 2011).

A adequada transferência de imunidade passiva apresentada pelos animais (\bar{x} $3.589,25 \pm 878,48$ mg/dL de IgG) representa proteção imune aos neonatos durante as primeiras semanas de vida (Chavatte- Palmer, 2001). A dinâmica entre anticorpos derivados do colostro e produção

endógena são importantes e essenciais na proteção celular e humoral não apenas no nascimento, tal como nos primeiros meses de vida (Tallmadge, 2016). Contudo, a concentração mínima para conferir proteção é dependente de fatores relacionados ao patógeno, indivíduo, meio ambiente e manejo dos animais (McGuire et al., 1975). Durante a primeira semana de vida dos animais não houve indício clínico ou laboratorial de afecção neonatal, bem como os animais apresentaram desenvolvimento e ganho de peso adequado (\bar{x} 1,41 Kg/dia).

A escolha do método imunodifusão radial para avaliação da concentração de imunoglobulinas séricas neonatal foi atribuído ao teste ser considerado de referência. Apesar de ser um método direto, quantitativo e com alta especificidade, possui desvantagens quando considerado a necessidade de equipamentos específicos e tempo mínimo de 24 horas para se obter o resultado (Davis e Giguère, 2005). Esse teste dificulta seu uso na rotina clínica, uma vez que a avaliação e decisão terapêutica devem ser o mais ágeis possível. Com isso, há necessidade na prática médica equina de teste com característica de ser simples, rápido, barato e apropriadamente confiável (Sedlinska et al., 2005).

O aumento significativo de PPT ($p < 0,001$) quando comparado a coleta antes de mamar e após a primeira mamada, representa absorção de proteínas colostrais. A mensuração de PPT por refratometria apresentou forte correlação quando comparado com analisador bioquímico ($r = 0,86$, $p < 0,001$), assim como já foi descrito por Neto et al, (2018) e Korouse et al, (2012). Como a albumina se manteve estável entre as duas coletas ($p > 0,05$), a elevação sérica de proteínas foi mediada pelo aumento de globulinas ($p < 0,001$) (Tab. 1). Embora diversas frações de globulinas possam estar presentes (α , β e γ), as frações α e β - globulinas são proteínas de fase aguda e se elevam em situações inflamatórias e/ou infecciosas (Favero et al., 2011; Kaneko et al., 2008; Tizard, 2018a). A fração γ -globulina que é composta pelas imunoglobulinas IgA, IgM, IgE e IgG, naturalmente estão em quantidade séricas pequena nos neonatos ao nascimento, elevando-se após a ingestão do colostro (Jeffcott, 1974b). Como os animais avaliados não apresentaram alterações clínicas, o aumento sérico de globulinas pode ser interpretado como reflexo do aumento de sua fração gama (γ). Este dado pode ser confirmado com a correlação positiva entre globulinas e IgG sérico ($r = 0,66$, $p < 0,001$) (Fig. 2). Como as principais proteínas presentes no colostro são as imunoglobulinas G (Tizard, 2018a), houve também correlação positiva entre a concentração de PPT e IgG séricos com 24 horas de vida ($r = 0,69$, $p < 0,001$) (Fig. 2).

A correlação positiva forte entre a concentração sérica de IgG e PPT mensurada por refratometria ($r = 0,82$, $p < 0,001$) e correlação moderada a forte com analisador bioquímico

($r=0,69$, $p<0,001$) sugere que a mensuração de PPT em neonatos sem alterações clínicas possa ser utilizada para estimar a concentração de imunoglobulinas. Com isso, o uso de refratômetros manuais torna-se opção para triagem de animais ainda na propriedade com suspeita de falha de transferência, uma vez que o equipamento é de baixo custo e simples manuseio. Dados similares foram observados em publicações de Neto et al. (2018) e Korouse et al. (2012). Entretanto, é aconselhável utilizar sempre em conjunto com informações clínicas e mensuração sérica de IgG, evitando falso-negativos ou falso-positivo que possam gerar custos e/ou perdas de animais por doenças (Neto et al., 2018; Liepman et al., 2015; Davis e Giguère, 2005).

Dentre os animais avaliados, nenhuma das progenitoras apresentou sinais de infecções uterinas durante o último mês de gestação, bem como não foi identificado alterações clínicas dos neonatos ao nascimento. Além disso, nenhum dos animais apresentou sinais de infecção focal ou sepse na primeira semana de vida. A maioria dos sinais de infecções adquiridas no pós-parto imediato ou intrauterinas surgem entre 48 e 96 horas de vida e até as primeiras 24 horas, respectivamente (Brewer, 1990). Com isso, o período de acompanhamento dos animais foi suficiente para identificar possíveis infecções adquiridas ainda no ambiente uterino ou nos primeiros momentos após o nascimento.

5. CONCLUSÃO

A adequada transferência de imunidade passiva apresentada pelos animais é um reflexo da ingestão de colostro em quantidade e qualidade adequados, associado a ausência de afecções neonatal e tempo apropriado para mamar. A correlação positiva apresentada entre a concentração sérica de IgG e PPT, torna a análise de proteínas totais um método alternativo para triagem de animais com suspeita de falha de transferência. A mensuração da PPT por refratometria é uma alternativa prática e rápida que pode ser aplicada ainda na propriedade. Como não houve correlação entre a qualidade do colostro e concentração de IgG sérico, a avaliação apenas do colostro não deve ser utilizada para prever transferência de imunidade.

6. REFERÊNCIAS

BIELMANN, V.; GILLAN, J.; et al. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v. 93, n. 8, p. 3713-3721, 2010.

BORGHESI, J., MARIO, L. C., RODRIGUES, M. N., FAVARON, P. O., & MIGLINO, M. A. Immunoglobulin transport during gestation in domestic animals and humans—a review. *Open J. Anim. Sci.*, v. 4, n. 5, p. 323, 2014.

BRASIL, C. L.; PEREIRA, D. I. B.; VALENTE, J. S. S. et al. Avaliação do colostro de éguas da raça crioula utilizando colostrômetro e refratômetro. In: XVIII ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO/ 2ª SEMANA INTEGRADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO- Universidade Federal de Pelotas, 2016, Pelotas. *Anais...* Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2016.

BREWER, B. D. Neonatal Infection. In: KOTERBA A, DRUMMOND W, KOSCH P, editors. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. Cap. 17, p. 295-316.

CASH, R. S. G. Colostral quality determined by refractometry. *Equine Vet. Educ.*, v. 11, n. 1, p. 36-38, 1999.

CHAVATTE, P.; CLÉMENT, F.; CASH, R.; GRONGNET, J. F. Field determination of colostrum quality by using a novel, practical method. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, n. 44, 1998, Baltimore, MD. *Proceedings...* Baltimore: AAPE Annual Convention, 1998. p. 206-209.

CHAVATTE-PALMER, P.; DUVAUX-PONTER, C.; CLÉMENT, F. 2001. Passive transfer of immunity in horses. *Pferdeheilkunde*, v. 17, n. 6, p. 669-672, 2001.

COSENTINO, C.; NOTARNICOLA, G.; PAOLINO, R. et al. Colostrum and milk characteristics in Murgese breed mares. *Czech J. Anim. Sci.*, v. 62, n. 11, p. 466-472, 2017.

CURCIO, B. R.; NOGUEIRA, C. E. W. Newborn adaptations and healthcare throughout the first age of the foal. *Anim. Reprod.*, v. 9, n. 3, p. 182-187, 2012.

DAVIS, R.; GIGUÈRE, S. Evaluation of five commercially available assays and measurement of serum total protein concentration via refractometry for the diagnosis of failure of passive transfer of immunity in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 227, n. 10, p. 1640-1645, 2005.

DROGOUL, C.; CLÉMENT, F.; VENTORP, M.; ORLANDI, M. (2006). Equine colostrum production and utilisation: basic and applied aspects. In: EUROPEAN ASSOCIATION FOR ANIMAL PRODUCTION, 120., 2006, Campobasso, Italy. *Proceedings...* Campobasso: EAAP publication, 2006. p. 203.

- ELSOHABY, I.; RILEY, C. B.; MCCLURE, J. T. Usefulness of digital and optical refractometers for the diagnosis of failure of transfer of passive immunity in neonatal foals. *Equine Vet. J.*, v.51, n. 4, p. 451-457, 2019.
- FAVERO, D. H. M. F.; DIAS, D. P. M. et al. Serum protein profile in Arabian foals recently weaned or at more than thirty days after weaning. *Pesq. Vet. Bras.* V. 31, n. 1, p. 89-93, 2011.
- FLAMINIO, M. J. B. F.; TALMADGE, R. Development of the Foal Immune System. In: McKINNON et al. *Equine Reproduction Second Edition*, JohnWiley & Sons Ltd, Ames, Iowa, 2011. Cap. 32, p. 331-341.
- JEFFCOTT, L. Duration of permeability of the intestine to macro-molecules in the new-born foal. *Vet. Rec.*, v.88, n.340-341, 1971.
- JEFFCOTT, L. B. Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. *Biol. Rev.*, v. 47, p. 439-464, 1972.
- JEFFCOTT, L. B. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. *Equine Vet. J.*, v. 6, p. 109-115, 1974a.
- JEFFCOTT LB. Studies on passive immunity in the foal. *J. Comp. Pathol.*, v. 84, p.93–101, 1974b.
- ECKERSALL, P. D. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6. Ed. Elsevier Inc., Burlington, MA, 2008. Cap. 5, p.117-172.
- KENZIG, A. R.; O'MEARA, K. M.; KREMER, C. J.; et al. Colostral, milk and serum immunoglobulin G concentrations in quarter horse mares and their foals. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 29, n. 5, p.486-487, 2009.
- KNOTTENBELT, D. C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J. E. Procedures and diagnostic aids. In: ___ *Equine neonatology medicine and surgery*. Tottenham, London: Saunders Ltd., 2004. Cap. 7, p. 365-404.
- KOROSUE K.; MURASE H.; SATO F.; et al. Correlation of serum IgG concentration in foals and refractometry index of the dam's pre- and post-parturient colostrums: an assessment for failure of passive transfer in foals. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 74, n. 11, p. 1387-1395, 2012.
- KOTERBA, A. M.; BREWER, B. D.; TARPLEE, F. A. Clinical and clinicopathological characteristics of the septicemic neonatal foal: review of 38 cases. *Equine Vet. J.*, v. 16, p. 376-382, 1984.

- LAVOIE, J. P.; SPENSLEY, M. S.; et al. Absorption of bovine colostral immunoglobulins G and M in newborn foals. *Am. J. Vet. Res.*, v. 50, p. 1598–1603, 1989.
- LEBLANC, M. M. Immunologic considerations. In: KOTERBA A, DRUMMOND W, KOSCH P. *Equine Clinical Neonatology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1990. Cap. 16, p. 275-294.
- LEBLANC, M. M.; TRAN, T.; BALDWIN, J. L. et al. Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 200, p. 179–183, 1992.
- LIEPMAN, R. S.; DEMBEK, K. A.; et al. Validation of IgG cut-off values and their association with survival in neonatal foals. *Equine Vet. J.*, v. 47, n. 5, p. 526-530, 2015.
- MARIELLA, J.; CASTAGNETTI, C.; et al Cytokine levels in colostrum and in foals' serum pre-and post-suckling. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 185, p. 34-37, 2017
- MASSEY, R. E.; LEBLANC, M. M.; KLAPSTEIN, E. F. Colostrum feeding of foals and colostrum banking. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 37, 1991, Denver, Colorado. *Proceedings...* Denver: AAPE Annual Convention, 1991. p. 1-8.
- MECHOR, G. D.; GRÖHN, Y. T.; et al. Specific gravity of bovine colostrum immunoglobulins as affected by temperature and colostrum components. *J. Dairy Sci.*, v. 75, p. 3131–3135, 1992.
- MCGUIRE, T. C.; POPPIE, M. J.; BANKS, K. L. Hypogammaglobulinemia predisposing to infection in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 166, n. 1, p. 71-75, 1975.
- MORRESEY, P. R. Prenatal and perinatal indicators of neonatal viability. *Clin. Tech. Equine Prac.*, v. 4, n. 3, p. 238-249, 2005.
- NETO, C. A.; OLIVEIRA-FILHO, J. P.; DELFIOL, D. J.; et al. Proteinograma e concentração sérica de IgG em potros, do nascimento aos trinta dias de vida, tratados com plasma. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 38, p. 795-805, 2018.
- SEDLINSKA, M.; KREJČÍ, J.; VYSKOČIL, M. Evaluation of field methods for determining immunoglobulin in sucking foals. *Acta Veterinaria Brno*, v. 74, n. 1, p. 51-58, 2005.
- STONEHAM, S. J. Assessing the newborn foal. In: PARADIS, M. R. *Equine neonatal medicine: A case-based approach*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. Cap. 1, pag. 1-11.
- TALLMADGE, R. L. The immune system of the young horse. In: FELIPPE, M. J. B. *Equine Clinical Immunology*. John Wiley & Sons, Inc., Ames, Iowa, 2016. Cap. 2, pag. 11-22.

TENNENT-BROWN, B. Plasma therapy in foals and adult horses. *Compend Contin. Edu. Vet.*, v. 33, n. 10, p. 1-4, 2011.

TIZARD, I. R. Antibodies. In: ____ *Veterinary Immunology* 10., Ed. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 2018a. Cap. 16, p. 162-172.

TIZARD, I. R. Immunity in fetus and newborn. In: ____ *Veterinary Immunology Ninth Edition*. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 2013a. Cap. 21, p. 225-239.

TIZARD, I. R. Immunity in fetus and newborn. In: ____ *Veterinary Immunology Tenth Edition*. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 2018b. Cap. 23, p. 248-259.

TYLER-MCGOWAN, C. M.; HODGSON, J. L.; HODGSON, D. R. Failure of passive transfer in foals: incidence and outcome on four studs in New South Wales. *Aust. Vet. J.*, v. 75, n. 1, p. 56-59, 1997.

UNANIAM, M.; SILVA, A. D.; PEREIRA, A. Concentração de IgG no colostro de éguas e soro sanguíneo da cria. *Arq. Biol. Tecnol.*, v. 38, n. 4, p. 1039-1044, 1995.

APÊNDICE A- INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA VALORES HEMATOLÓGICOS

Tabela 8: Intervalo de referência para parâmetros hematológicos em potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida

	Tempo de vida					
	<1h	12h	24h	48h	72h	7d
Eritrócitos ($10^6/\mu\text{L}$)	8,7 – 10,1	7,5 – 9,4	7,4 – 9,3	7,3 – 9,0	6,3 – 9,4	6,6 – 9,1
Hemoglobina (g/dL)	13,1 – 16,4	11,7 – 14,7	11,6 – 14,1	11,1 – 14,3	11,0 – 14,0	10,0 – 13,9
Hematócrito (%)	37,2 – 48,2	31,9 – 43,8	33,0 – 42,4	33,1 – 41,3	30,8 – 41,1	30,6 – 42,1
CHCM (g/dL)	30,1 – 38,68	31,1 – 38,7	30,3 – 40,6	31,3 – 40,8	31,5 – 41,8	31,4 – 41,7
VCM (fL)	38,9 – 49,1	38,5 – 46,6	37,8 – 46,2	36,9 – 45,4	36,7 – 45,3	35,9 – 43,6
RDW-CV (%)	14,5 – 16,4	14,7 – 16,4	14,2 – 16,4	14,0 – 16,0	13,9 – 16,1	14,1 – 16,37
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	169 – 397	126 – 300	97 – 292	80 – 271	89 – 238	95 – 264
Leucócitos totais ($10^3/\mu\text{L}$)	5,1 – 7,3	5,3 – 11,4	4,8 – 9,6	1,3 – 8,7	3,8 – 8,5	5,3 – 11,7
Linfócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	0,32 – 5,47	0,38 – 6,09	0,43 – 5,80	0,19 – 1,35	0,16 – 1,14	0,10 – 1,52
Segmentados ($10^3/\mu\text{L}$)	0,01 – 5,37	0,02 – 8,31	0,02 – 6,90	0,02 – 6,56	2,93 – 5,93	0,03 – 9,04
Monócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	0,03 – 0,81	0,06 – 0,86	0,06 – 0,95	0,08 – 0,82	0,16 – 0,74	0,07 – 1,06
Eosinófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	0,01 – 0,22	0,01 – 0,27	0,02 – 0,28	0,02 – 0,36	0,06 – 0,52	0,02 – 0,51

Abreviações: VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW, amplitude de distribuição dos eritrócitos (red blood cell distribution width); CV, coeficiente de variação; g/dL, gramas por decilitros; μL , microlitros; h, horas de vida; d, dias de vida.

APÊNDICE B- INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA METABÓLICOS ORGÂNICOS, PROTEÍNAS E ENZIMAS SÉRICAS

Tabela 9: Intervalo de referência para metabólicos orgânicos, proteínas e enzimas séricas em potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida.

	Tempo de vida					
	<1h	12h	24h	48h	72h	7d
Ureia (mg/dL)	29 – 57	21 – 45	22 – 42	17 – 29	11 – 14	14 – 28
Creatinina (mg/dL)	1,4 – 2,5	0,9 – 1,7	0,7 – 1,1	0,7 – 1,1	0,6 – 1,0	0,5 – 0,9
PPT (g/dL)	3,6 – 4,4	3,4 – 7,0	4,3 – 6,8	3,8 – 7,1	4,3 – 7,0	4,3 – 6,6
Globulina (g/dL)	0,2 – 0,7	0,5 – 3,8	0,9 – 4,12	1,05 – 3,9	1,4 – 3,71	1,4 – 3,3
Albumina (g/dL)	3,2 – 3,6	2,7 – 3,3	2,9 – 3,3	2,6 – 3,3	2,8 – 3,3	2,7 – 3,3
IgG (mg/dL)	---	---	2.711 – 4.467	---	---	---
AST (U/L)	60 – 169	71 – 176	113 – 156	98 – 198	131 – 226	145 – 268
GGT (U/L)	0,6 - 39	0,2 - 54	20 - 46	0,8 - 41	0,7 - 48	0,4 - 56
Bil. Indireta (mg/dL)	0,5 – 2,7	1,0- 4,0	0,8 – 4,3	0,9 – 3,4	0,5 – 2,9	0,4 – 2,0
Bil. Direta (mg/dL)	0,1 – 0,5	0,1 – 0,4	0,2 – 0,5	0,1 – 0,5	0,1 – 0,4	0,2 – 0,5
Bilr. Total (mg/dL)	0,8 – 2,8	1,2 – 4,0	0,9 – 4,3	0,9 – 3,6	0,5 – 3,2	0,6 – 2,3
Glicose (mg/dL)	41 – 77	88 – 152	116 – 165	121 – 157	128 – 162	100 – 140
Lactato (mmol/L)	2,4 – 4,6	1,6 – 5,4	1,5 – 3,9	1,4 – 4,2	1,4 – 3,4	1,3 – 3,2
Fibrinogênio (mg/dL)	134 – 865	89 – 777	102 – 830	87 – 480	86 – 560	145 – 762

Abreviações: PPT, proteína plasmática total; AST, aspartato aminotransferase; GGT, gama glutamil transferase; IgG, imunoglobulina G; mg/dL, miligramas por decilitro; g/dL, grama por decilitro; U/L, unidades por litro; mmol/L, milimols por litro; h, horas de vida; d, dias de vida.

APÊNDICE C- INTERVALO DE REFERÊNCIA PARA ELETRÓLITOS SÉRICOS

Tabela 10: Intervalo de referência para eletrólitos séricos em potros Mangalarga Marchador na primeira semana de vida

	Tempo de vida					
	<1h	12h	24h	48h	72h	7d
Ca⁺⁺ (mg/dL)	10,8 – 12,7	10,1 – 12,9	11,3 – 13,4	11,1 – 13,3	9,8 – 14,0	9,0 – 13,5
Cl⁻ (mEq/L)	96,0 – 104,9	91,4 – 104,4	74,4 – 115,1	88,6 – 103,7	89,9 – 103,6	87,3 – 101,0
P (mg/dL)	2,2 – 4,0	2,4 – 4,8	2,5 – 7,0	3,8 – 7,2	4,6 – 7,6	5,1 – 7,8
K⁺ (mEq/L)	2,6 – 5,2	2,3 – 4,2	2,7 – 3,4	2,4 – 4,6	2,6 – 4,5	2,4 – 4,4
Na⁺ (mEq/L)	46,4 – 185,6	86,3 – 243,1	103,8 – 229,9	56,2 – 234,4	90,4 – 222,8	91,5 – 270,8
Mg⁺⁺ (mg/dL)	1,4 – 1,9	1,5 – 2,7	1,8 – 2,6	1,4 – 2,4	1,5 – 2,3	1,4 – 2,0

Abreviações: Ca⁺⁺, Cálcio; Cl⁻, Cloreto; P, Fósforo; Mg⁺⁺, Magnésio; K⁺, Potássio; Na⁺, Sódio; mg/dL, miligramas por decilitro; mEq/L, miliequivalente por litro; h, horas de vida; d, dias de vida.