

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 04/07/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA VETERINÁRIA

PROTEINOGRAMA E CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA G
SÉRICOS EM POTROS, DO NASCIMENTO AOS TRINTA DIAS DE VIDA,
TRATADOS COM PLASMA

CAMPO AMOR VIEIRA DA CUNHA NETO

BOTUCATU - SP

Julho de 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA VETERINÁRIA

PROTEINOGRAMA E CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA G
SÉRICOS EM POTROS, DO NASCIMENTO AOS TRINTA DIAS DE VIDA,
TRATADOS COM PLASMA

CAMPO AMOR VIEIRA DA CUNHA NETO

Dissertação apresentada junto ao
programa de Pós-graduação em
Medicina Veterinária para a obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Secorun
Borges

Coorientador: Prof. Dr. João Pessoa
Araújo Júnior

BOTUCATU - SP

Julho de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Cunha Neto, Campo Amor Vieira da.

Proteinograma e concentração de imunoglobulina G séricos em potros, do nascimento aos trinta dias de vida, tratados com plasma / Campo Amor Vieira da Cunha Neto. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Alexandre Secorun Borges
Coorientador: João Pessoa Araújo Júnior
Capes: 50501062

1. Eletroforese. 2. Imunoglobulinas. 3. Ensaio de imunoabsorção enzimática. 4. Plasma sanguíneo. 5. Técnicas imunoenzimáticas. 6. Potros.

Palavras-chave: Eletroforese; Ensaio imunoenzimático; Imunoglobulina; Plasma; Potro.

Nome do Autor: Campo Amor Vieira da Cunha Neto.

Título: Proteinograma e concentração de imunoglobulina G séricos em potros, do nascimento aos trinta dias de vida, tratados com plasma

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Secorun Borges
Presidente e Orientador
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu.

Prof. Dr. José Paes de Oliveira Filho
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu.

Prof. Dr. Diego José Zanzarini Delfiol
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária - FAMEV
Universidade Federal de Uberlândia - UFU - Uberlândia, MG.

Data da defesa: 04 de julho de 2016.

A minha amada família!

Aos meus pais, Neri Vieira da Cunha e Maria Nicen da Cunha, pela vida, amor incondicional, apoio, exemplos de vida, fé e ensinamentos que sempre me conduzem pelos caminhos da vida.

Aos meus irmãos e “baluartes”, Vlademir, Edna (in memoriam) e Neri Hellen, pelo apoio, amor, cumplicidade e compreensão em tantos momentos.

A minha doce esposa e grande amor da minha vida, Analice, pelo amor, força, cumplicidade, carinho e paciência inenarráveis.

Vocês são minha fonte de inspiração, meu porto seguro!

AGRADECIMENTOS

A Santíssima trindade, pelo dom da vida, imenso amor e misericórdia, por der me dado forças nesta caminhada. Também à Maria, Santa Mãe de Deus na imagem de Nossa Senhora de Aparecida, pois tudo em minha vida está em suas mãos santas e misericordiosas.

Ao professor e orientador Dr. Alexandre Secorun Borges, pela recepção, pela amizade, pelos ensinamentos, confiança, força, gentileza e principalmente pelo apoio e oportunidades.

Ao professor e coorientador Dr. João Pessoa Araújo Júnior, por “abrir as portas de seu laboratório”, possibilitando o desenvolvimento das análises necessárias. Também pela amizade, pelos ensinamentos, gentileza e confiança.

A professora Dra. Maria Julia B. Felipe do Departamento de Ciências Clínicas da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Cornell, por gentilmente ceder anticorpo equino utilizado neste trabalho.

Ao professor Dr. José Paes de Oliveira Filho, pelo suporte na realização do proteinograma realizado, pelo convívio, pela amizade, apoio e colaboração sempre disponíveis, pelos ensinamentos, gentileza e atenção. Também a sua esposa, Andreza, pelo apoio e gentileza.

A professora Dra. Regina Kiomi Takahira e toda sua equipe do laboratório de patologia clínica, pelo apoio e prestatividade no processamento do plasma utilizado nos potros, pela atenção e carinho, amizade e ensinamentos.

Ao professor Dr. José Carlos de Oliveira Pantoja, pela contribuição nas análises estatísticas, pela amizade, ensinamentos e atenção.

Ao professor Dr. Diego José Zanzarini Delfiol, pelo imenso incentivo e ajuda na idealização deste projeto, pelos ensinamentos e por sempre se disponibilizar a ajudar no que fosse necessário, pela amizade e atenção.

Ao Médico Veterinário Dr. Hilton de Oliveira Rodrigues, o qual tive a honra e satisfação de trabalhar em equipe, pela oportunidade profissional, pelo apoio e incentivo em continuar estudando, pelos ensinamentos e pela confiança depositada, pela amizade, pelos vários conselhos que nunca irei esquecer. Também à sua esposa dona Sandra e suas queridas filhas, pela gentileza e amizade.

Ao Haras Beverly Hills Stud, que sob a propriedade do Sr. Alessandro Arcangeli e direção do Sr. Eduardo Guimarães permitiu que este estudo fosse realizado. A todos os colaboradores do administrativo, da casa Sede e do campo, que me acolheram e me ajudaram nos três anos que lá permaneci.

A todos os encarregados e cavaleiros do Beverly Hills Stud, especialmente Lucas Paula Leite e Vanderlei Melo, pela ajuda em vários momentos de coleta, pelo auxílio e companhia em tantos partos, de noite ou de dia, sob sol ou chuva, muito obrigado pela amizade, pela dedicação e pelo respeito aos cavalos.

Ao médico veterinário Dr. André Anzanello T. A. Carrascoza, o qual tive a honra e satisfação de trabalhar em conjunto. Pelas ótimas horas de discussões clínicas, as quais eram excelentes oportunidades de aprendizado. Pelos vários conselhos que me ajudaram tanto na vida profissional quanto pessoal, pela amizade, pela gentileza e atenção durante todo o tempo de convívio.

As pós-graduandas Dra. Tais Fukuta da Cruz, Dra. Michely Tenório da Silva e Msc. Camila Dantas Malossi, pela paciência e dedicação pelas quais me ajudaram em vários procedimentos deste trabalho, pela amizade e gentileza. Também aos demais “colegas de bancada”, Claudia Tozato, Jacqueline Kurissio, Eduardo Fiorati, Mariana Vaz, Ariani Almeida e Ricardo Seiti, pela amizade, apoio e todos os momentos de convivência.

Aos Pesquisadores e pós-graduandos do IBTEC, comunidade “Ibetequiana”, sob a supervisão dos Professores Dr. Deilson, Dr. Jaime e Dr. Paulo Ribolla, por disponibilizar seus equipamentos e material de estudo e trabalho, pelas agradáveis e produtivas conversas nos momentos do cafezinho.

Aos Colegas de Pós-graduação, pessoal da “salinha” que apesar de pequena no espaço físico é enorme na capacidade de acolhimento, Mariana Palumbo, Didier Cagnini, Diego Delfiol, Giovane Olivo, César Irineudo, Peres Ramos, Mariana Herman, Juliana Mira, Juliana Gama, Aline Angella, Danilo Andrade e Anelize Trecenti, pela amizade, pelo apoio e pela agradável convivência.

Aos companheiros de casa, Diego Zanzarini Delfiol, Giovane Olivo e César Irineudo Tavares de Araújo, parceiros, padrinhos de casamento e irmãos de coração, por me acolherem em Botucatu e me oferecerem uma extensão do meu lar, pela amizade, pela gentileza, pelos vários momentos juntos e tantas

conversas, pelos ensinamentos, pela força, pelo apoio e pelos exemplos de dignidade.

Aos queridos casais de amigos, Rodrigo Cavalcanti e Vanessa Kultz, Didier e Eduarda, Diego e Elisa, Giovane e Juliana, Peres e Aline Bronzato, pelo apoio e vários momentos juntos, sempre com muita alegria.

Aos amigos e colegas de pós-graduação, Leandro Américo, Luiz Mattos, Dietrich Pizzigatti, Emiliano Cisneros, Juliana Alonso, Carlos Ramires Neto, Thiago Nitta, Fábio e Vitor Hugo, pela amizade, incentivo e agradável convivência.

Ao Dr. Rodrigo Rosa Giampietro por me ajudar num dos momentos mais difíceis da minha vida, pela amizade, pelo incentivo, por tantos momentos, sempre com muita alegria e disposição. Também, à toda equipe da faculdade de medicina de Botucatu, sob supervisão da professora Dra. Vânia Nunes.

Aos médicos veterinários, Dr. Peres Ramos Badial, Msc. Guilherme Sicca Lopes Sampaio e Msc. Fabio Sossai Possebon, pelo auxílio em dúvidas estatísticas, pela atenção, amizade e gentileza.

Aos docentes do Departamento de Clínica Veterinária, Dr. Roberto Calderon Gonçalves, Dr. Simone Biagio Chiacchio e Dr. Rogério Martins Amorim e também aos docentes do Departamento de Cirurgia Veterinária, Dr. Carlos Alberto Hussni, Dra. Ana Liz Garcia Alves, Dr. Celso Antônio Rodrigues e Dr. Marcos Jun Watanabe, pelo incentivo inenarrável, pelo apoio, ensinamentos e amizade, por todos os momentos de convivência que sempre agregam muito na minha vida pessoal e profissional.

Aos membros do conselho de pós-graduação em medicina veterinária, Dr. Hélio Langoni, Dr. José Carlos F Pantoja, Dr. Alexandre Secorun Borges, Dra. René Laufer Amorin, Dra. Jane Megid, Dr. Marcio Garcia Ribeiro, Dra. Regina Kiomi Takahira, Dra. Noeme Sousa Rocha, à Doutoranda Carmen Bolaños e ao secretário Carlos Pazini pelo apoio, pelo carinho, respeito e compreensão em tantos momentos.

Aos colaboradores de apoio administrativo da seção de pós-graduação, que sob a supervisão de Carlos Pazini Junior, sempre estiveram prontos para resolver as questões burocráticas necessárias a correta condução do programa, pelo carinho e atenção.

As secretárias do Departamento de Clínica Veterinária, Marlene Dias de Camargo e Izabel Cristina Castro e aos funcionários da Clínica de Grandes Animais Cesar Leme e Marco Antônio Simão pela colaboração, amizade e carinho durante todo o tempo de convivência.

Aos residentes, graduandos e estudantes de iniciação científica da clínica e também da cirúrgica de grandes animais, pela amizade, gentileza e atenção em tantos momentos.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão da bolsa de mestrado, possibilitando a execução deste projeto.

Aos Cavalos, por me fazerem vivenciar um sonho de infância, animais de nobreza e força inefáveis, que me ensinam, a cada dia, observar, servir e lutar.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Média \pm desvio padrão (DP) das variáveis etológicas e score APGAR de potros da raça puro sangue inglês e dados da placenta de suas respectivas mães logo após o nascimento (n=20)	22
TABELA 2 - Mediana (mínimo/máximo) das frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) e temperatura retal (TR) de potros da raça puro sangue inglês, em cinco momentos, do nascimento aos 30 dias de vida (n=20) ...	23
TABELA 3 - Média \pm desvio padrão da Proteína Total (dois métodos), Albumina e Globulinas Totais dos potros (n=20), nos cinco momentos, e éguas (n=20) no momento do parto.....	24
TABELA 4 - Medidas de tendência central e dispersão da proteína total (PT) obtida através de analisador bioquímico e das frações proteicas - Alb. (albumina), α 1 (alfa1-globulina), α 2 (alfa2-globulina), β (beta-globulina) e γ (gamaglobulina) - dos potros (n=20) nos cinco momentos e éguas progenitoras (n=20) no momento do parto.....	26
TABELA 5 - Média \pm desvio padrão das concentrações de IgG sérico de potros em cinco momentos, suas respectivas mães e do plasma no momento da transfusão, obtidos através da técnica de S-ELISA e IDRS...	30
TABELA 6 - Média \pm Desvio Padrão da densidade específica, índice BRIX e concentração de IgG, estimado por S-ELISA e IDRS, de amostras de colostro de éguas colhidas imediatamente após o parto, antes da primeira mamada dos potros (n=20)	33

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Representação gráfica da forte correlação positiva entre os valores de PT obtidos através de refratômetro manual e analisador bioquímico com coeficiente de correlação de Pearson 0,92 e $P < 0,0001$ 23
- FIGURA 2 - Configuração do laudo de leitura das frações proteicas séricas de um potro clinicamente saudável no M1 (A) e M2 (B). Os picos representam, da esquerda para a direita, as bandas albumina, α_1 , α_2 , β e γ -globulinas no gel de agarose. Notar a fração gamaglobulina virtualmente inexistente em M1 (A) onde o potro ainda não havia mamado o colostro..... 25
- FIGURA 3 - Representação gráfica da relação entre concentração sérica de proteína total (PT), obtidas pelas técnicas de refração e biureto em analisador bioquímico, e a fração γ -globulina pela técnica de eletroforese em gel de agarose dos potros com 10 horas de vida ($P < 0,0001$)..... 27
- FIGURA 4 - Eletroforese SDS-PAGE 12,5%: Caracterização de imunoglobulina G a partir da identificação de suas cadeias leve e pesada, 25 KDa e 50 KDa respectivamente. Colunas 2 e 3 - amostras IgG equina e IgG de coelho anti-equina, respectivamente; colunas 4 a 9 – soro albumina bovina; Coluna 10 - padrão de peso molecular..... 28
- FIGURA 5 - Correlação entre concentrações de IgG humana (1 $\mu\text{g/ml}$; 0,75 $\mu\text{g/ml}$; 0,5 $\mu\text{g/ml}$; 0,25 $\mu\text{g/ml}$; 0,125 $\mu\text{g/ml}$; 0,062 $\mu\text{g/ml}$) e seus respectivos valores de absorvância, obtidos pela técnica de BCA, utilizados para análise de regressão linear e construção da equação da reta padrão, para determinação das concentrações relativas de IgG equina e IgG de coelho anti-IgG equino..... 28
- FIGURA 6 - Representação gráfica da relação positiva entre as concentrações de IgG nas amostras de soro e plasma avaliadas por S-ELISA e IDRS ($r=0,72$ e $P < 0,0001$)..... 29
- FIGURA 7 - Histograma mostrando a diferença dos valores de IgG sérico dos potros entre os momentos de avaliação obtidos através de S-ELISA e IDRS. M1= logo após o parto, previamente mamar colostro; M2= dez horas de vida; M3= 24 horas de vida (previamente transfusão plasma); M4= 48 horas de vida (24 horas após transfusão plasma); M5= 30 dias de vida..... 30
- FIGURA 8 - Histograma mostrando a diferença entre os valores de IgG sérico e colostrado, das éguas progenitoras, obtidos através de S-ELISA e IDRS..... 31
- FIGURA 9 - Representação gráfica da relação entre concentração sérica de proteína total (PT), obtidas em analisador bioquímico e refratômetro, e IgG sérico pela técnica de IDRS (A) e S-ELISA (B) nos cinco momentos ($P < 0,01$)..... 32

FIGURA 10 - Representação gráfica da correlação entre concentração de globulina total e IgG sérico pela técnica de IDRS (A) e S-ELISA (B) nos cinco momentos de avaliação dos potros.....	32
FIGURA 11 - Representação gráfica da correlação entre concentração da fração γ -globulina e IgG sérico pela técnica de IDRS e S-ELISA nos cinco momentos de avaliação dos potros.....	32
FIGURA 12 - Representação gráfica da correlação entre concentração de IgG sérico dos potros no M2 e colostrar das éguas no momento do parto pela técnica de S-ELISA (A) e IDRS (B).....	33
FIGURA 13 - Representação gráfica da correlação positiva entre a densidade das amostras de colostro avaliado colostrômetro portátil de índice BRIX e colostrômetro de densidade específica ($r=0,44$ e $P=0,05$)...	34
FIGURA 14 - Representação gráfica da relação entre densidade, avaliado por colostrômetro de índice BRIX (A) e densidade específica (B) e concentração de IgG avaliado por S-ELISA e IDRS, das amostras de colostro.....	34

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUÇÃO	3
1.1 Justificativa.....	4
2 REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Resposta imune inata e adaptativa.....	5
2.1.1 Produção de anticorpos	7
2.2 Transferência de Imunidade passiva.....	7
2.2.1 Colostro	8
2.2.2 Plasma hiperimune	9
2.3 Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva.....	10
2.3.1 Métodos indiretos.....	10
2.3.2 Métodos diretos.....	11
3 OBJETIVOS	12
3.1 Objetivo geral.....	12
3.2 Objetivos específicos.....	12
4 MATERIAIS E MÉTODOS	13
4.1 Animais.....	13
4.1.1 Exame físico e registro dos dados etológicos	13
4.2 Esquema de imunização.....	14
4.2.1 Doadores	14
4.2.2 Éguas PSI	14
4.3 Colheita, Extração e Administração do Plasma.....	14
4.4 Colheita das amostras.....	15
4.5 Proteína total e frações proteicas séricas	15
4.6 Determinação da concentração de IgG total	16
4.6.1 Purificação IgG equino utilizado como padrão	16
4.6.2 Antissoro e anticorpo de coelho anti-IgG equino	17
4.6.3 Imunodifusão Radial Simples (IDRS)	18
4.6.4 Ensaio Imunoenzimático “Sanduíche” (S-ELISA).....	18
4.6.4.1 Teste de repetibilidade S-ELISA.....	20
4.7 Análise do Colostro	20
4.8 Análise estatística.....	21
5 RESULTADOS	22

5.1 Dados clínicos dos potros e éguas	22
5.2 Proteína Total, Albumina e Globulinas Totais.....	23
5.3 Proteinograma (Eletroforese em gel de agarose).....	24
5.4 Determinação IgG total.....	27
5.4.1 Anticorpos purificados	27
5.4.2 Teste de repetibilidade do S-ELISA.....	28
5.4.3 Determinação IgG total por IDRS e S-ELISA	29
5.5 Densidade e concentração de IgG colostrais.....	33
6 DISCUSSÃO	35
7 CONCLUSÃO	42
8 AGRADECIMENTO	42
9 REFERÊNCIAS.....	43
10 TRABALHO CIENTÍFICO.....	53
11 ANEXOS	72
ANEXO 1 - Normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira	72
ANEXO 2 - Valores individuais de proteína total (mg/dL), determinado por refratômetro manual dos potros nos cinco momentos de avaliação.....	74
ANEXO 3 - Valores individuais de proteína total (mg/dL), determinado por analisador bioquímico, dos potros nos cinco momentos de avaliação.....	75
ANEXO 4 - Valores individuais de Albumina (mg/dL), determinado por analisador bioquímico, dos potros nos cinco momentos de avaliação.....	76
ANEXO 5 - Valores individuais das frações proteicas (mg/dL), obtidas através de eletroforese em gel de agarose, dos potros no M1 de avaliação.....	77
ANEXO 6 - Valores individuais das frações proteicas (mg/dL), obtidas através de eletroforese em gel de agarose, dos potros no M2 de avaliação.....	78
ANEXO 7 - Valores individuais das frações proteicas (mg/dL), obtidas através de eletroforese em gel de agarose, dos potros no M3 de avaliação.....	79
ANEXO 8 - Valores individuais das frações proteicas (mg/dL), obtidas através de eletroforese em gel de agarose, dos potros no M4 de avaliação.....	80
ANEXO 9 - Valores individuais das frações proteicas (mg/dL), obtidas através de eletroforese em gel de agarose, dos potros no M2 de avaliação.....	81
ANEXO 10 - Valores individuais de IgG séricos dos potros (mg/dL), nos cinco momentos, determinados por S-ELISA e IDRS.	82
ANEXO 11 - Valores individuais da Proteína Total (refratômetro e bioquímico), Albumina (bioquímico) e cinco frações proteicas obtidas através de eletroforese em gel de agarose do grupo de éguas (mg/dL).....	83
ANEXO 12 - Valores individuais do IgG Total, determinado por S-ELISA e IDRS das amostras de soro e colostro do grupo de éguas (mg/dL), bem como os valores de densidade específica e índice BRUX (%) das amostras de colostro.....	84

ANEXO 13 - Valores individuais da Proteína Total (refratômetro e bioquímico), cinco frações proteicas obtidas através de eletroforese em gel de agarose e IgG total obtido por S-ELISA e IDRS do plasma (utilizado nos potros) dos quatro doadores (mg/dL).....	85
---	----

CUNHA NETO, C.A.V. **Proteinograma e concentração de imunoglobulina G séricos em potros, do nascimento aos trinta dias de vida, tratados com plasma.** Botucatu, 2016. 99p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar o proteinograma e concentrações séricas de IgG em potros do nascimento aos trinta dias, antes e depois de mamarem colostro e serem tratados com plasma, bem como avaliar a qualidade do colostro e plasma utilizados. Para tal, foram utilizados 20 potros e suas respectivas mães, além de quatro animais doadores (plasma). Foram colhidas amostras de sangue dos potros em cinco momentos (M1= zero, M2= dez, M3= 24, M4= 48 horas e M5= 30 dias de vida), sangue e colostro das éguas progenitoras no momento do parto. Amostras de soro plasma foram avaliadas a concentrações de Proteína total e albumina por técnica colorimétrica e refratometria. O proteinograma sérico foi obtido através de eletroforese em gel de agarose e a globulina total foi estimada através de cálculo matemático. Foi avaliado a densidade do colostro e a concentração de IgG total de todas as amostras foi determinada por imunodifusão radial e um novo sistema de ELISA. A média \pm desvio padrão da concentração sérica de IgG dos potros de M1 a M5, avaliada por ELISA, foi de 15 ± 8 mg/dL, 2.408 ± 608 mg/dL, 2.282 ± 783 mg/dL, 2.364 ± 784 mg/dL e 1.414 ± 586 mg/dL, respectivamente. Os níveis séricos e colostrais de IgG (ELISA) foram de 1746 ± 505 mg/dL e 7714 ± 2619 mg/dL, respectivamente. Houve forte correlação entre os resultados obtidos por ambos os testes de quantificação de IgG. Todavia, a concentração de IgG determinada por IDRS, em todas as amostras, foram estatisticamente maiores que as determinadas por ELISA.

Palavras-chave: Potros; Imunoglobulina G; Eletroforese; Ensaio Imunoenzimático.

CUNHA NETO, C.A.V. **Proteinogram and serum immunoglobulin G concentration in foals from birth to thirty days of life, treated with plasma.** Botucatu, 2016. 99p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the protein concentrations and serum IgG in foals birth to thirty days, before and after suckling colostrum and be treated with plasma and evaluate the quality of colostrum and plasma used. Twenty foals and their mothers were used and four donor animals (plasma). colts blood samples were collected in five times (M1 = zero, M2 = ten M3 = 24, M4 = 48 hours and M5 = 30 days), blood and colostrum progenitor mares at foaling. Plasma Serum samples were evaluated for total protein and albumin concentrations and refraction by colorimetric technique. Serum protein was obtained by electrophoresis on an agarose gel, and the total globulin has been estimated through mathematical calculation. The mean \pm standard deviation of the serum IgG concentration of foals group of the M1 at M5, measured by ELISA, was of 15 ± 8 mg / dL, $2,408 \pm 608$ mg / dL, $2,282 \pm 783$ mg / dL, $2,364 \pm 784$ mg / dl and 1.414 ± 586 mg / dL, respectively. Serum IgG and colostral (ELISA) were 1.746 ± 505 mg / dL and 7714 ± 2619 mg / dl, respectively. There was a strong correlation between the results obtained by both quantitation of IgG tests. However, the IgG concentration determined by SRID in all samples were statistically higher than those obtained by ELISA.

Key Words: Foal; Immunoglobulin G; Electrophoresis; Enzyme-Linked Immunosorbent assay.

1 INTRODUÇÃO

O rebanho nacional de equinos em 2011 era de 5.510.601 animais e somados ao rebanho de asininos e muares o total de equídeos no Brasil era de 7.754.692 animais (IBGE, 2012). De acordo com estimativas da FAO (2013) o Brasil possui o quarto maior rebanho de equinos do mundo, estando atrás apenas dos Estados Unidos (10.350.000 animais), México (6.356.000 animais) e China (6.337.380 animais).

O complexo do agronegócio equídeo no Brasil movimenta cerca de R\$ 7,3 bilhões somente com a produção de cavalos. O rebanho envolve mais de 30 segmentos e gera aproximadamente 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (MAPA, 2015).

Para a manutenção desse complexo é fundamental que se realize um manejo sanitário de neonatos para evitar que doenças possam prejudicar a criação. Isso se deve principalmente pelo fato dos potros nascerem com um sistema imune imaturo e serem agamaglobulinêmicos. Assim, são susceptíveis a várias infecções onde se destacam as respiratórias por patógenos ambientais (JEFFCOTT, 1974; WOHLFENDER et al., 2009).

A fonte mais adequada de imunoglobulinas para o potro neonato é a ingestão de quantidade adequada de colostro materno, de preferência até 12 horas de vida, pois após esse período a absorção das mesmas é bastante reduzida ou nula (RAIDAL et al., 2005).

Potros devem ser avaliados quanto a transferência adequada de imunidade passiva e aqueles que não possuem níveis adequados de imunoglobulinas até nove horas de vida devem receber uma quantidade extra de colostro oriundo da mãe ou banco de colostro (HOFSAESS, 2001).

É difícil para a maioria dos proprietários realizar a identificação de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) antes de 12 horas de vida na maioria dos potros. Isso por que não é recomendado oferecer colostro, substituto de colostro ou plasma por via oral em potros com mais de 18 horas de vida. Desta forma é necessária a administração por via intravenosa de plasma hiperimune na tentativa de aumentar os níveis séricos de imunoglobulinas (PARADIS, 2006).

Já foi observado que potros tratados com plasma hiperimune possuíam maior titulação de imunoglobulinas em relação ao grupo não tratado, além de

uma menor ocorrência de infecção respiratória em propriedades consideradas endêmicas para broncopneumonia por *R. equi* (TYLER-MCGOWAN et al., 1997; HIGUCHI et al., 1999).

7 CONCLUSÃO

Nas condições do presente trabalho foi possível descrever parâmetros fisiológicos e comportamentais potros hígidos ao nascimento e clínicos do nascimento aos trinta dias de vida. Também foi possível verificar que as concentrações séricas de algumas frações proteicas de potros hígidos não dependem do colostro, pois já estavam em níveis semelhantes a animais adultos desde o nascimento, antes da primeira mamada.

A proteína total e globulinas totais se mostraram fracas indicadoras da concentração de IgG em amostras de soro de potros hígidos. Todavia, a proteína total estimada por refratômetro manual teve melhor correlação com a concentração de IgG destas amostras.

O colostrômetro de refração (índice BRIX) se mostrou melhor indicador da concentração de IgG em amostras de colostro colhidas imediatamente após o parto do que o colostrômetro de densidade específica utilizando as mesmas amostras após o congelamento.

Com o sistema de ELISA aqui proposto foi possível determinar concentrações de IgG em amostras de soro, plasma e colostro equino com uma boa repetibilidade e a capacidade de mensurar ampla variação de concentrações dentro de um mesmo teste. Além disto, os valores determinados por S-ELISA, apesar de mais altos, estavam mais próximos dos valores de gamaglobulina determinados através de eletroforese e isso nos sugere uma melhor precisão do teste de S-ELISA em relação a IDRS, nas condições aqui realizadas.

Concentrações de IgG determinadas por ELISA são subestimadas em relação ao IDRS, se fazendo necessário estabelecer novos pontos de corte para diagnóstico de FTIP caso se utilize o ELISA para tal fim.

8 AGRADECIMENTO

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pela concessão de bolsa de mestrado (processo nº 2014/13328-7).

9 REFERÊNCIAS

LANG, A.; SOUZA, M. V.; SALCEDO, J. H. P.; SOSSAI, S.; ARAÚJO, R. R.; LOURENÇO, G. G.; MAIA, L. IMUNIDADE PASSIVA EM EQUINOS: COMPARAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE IgG DO SORO MATERNO, COLOSTRÓ E SORO DO NEONATO. **Revista Ceres**, v. 54, n. 315, p. 405–411, 2007. Disponível em: <<http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3256>>.

AUFFRAY, C.; FOGG, D.; GARFA, M.; et al. Monitoring of Blood Vessels and Tissues by a Population of Monocytes with Patrolling Behavior. **Science**, v. 317, n. 5838, p. 666–670, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1142883>>.

BALSON, G. A; SMITH, G. D.; YAGER, J. A. Immunophenotypic analysis of foal bronchoalveolar lavage lymphocytes. **Veterinary microbiology**, v. 56, n. 3-4, p. 237–46, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9226838>>.

BEETSON, S. A.; HILBERT, B. J.; MILLS, J. N. The use of the glutaraldehyde coagulation test for detection of hypogammaglobulinaemia in neonatal foals. **Australian Veterinary Journal**, v. 62, n. 8, p. 279–281, 1985. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-0813.1985.tb14252.x>>.

BIEBL, A.; GRILLENBERGER, A.; SCHMITT, K. Enema-induced severe hyperphosphatemia in children. **European Journal of Pediatrics**, v. 168, n. 1, p. 111–112, 2009.

BOLLAG, D.M; ROZYCKI, M.D.; EDELSTEIN, S. J. **Protein Methods, 2nd Edition**. 1996.

CASH, R. S. G. Colostral quality determined by refractometry. **Equine Veterinary Education**, v. 11, p. 36–38, 1999.

CASTON, S. S.; MCLURE, S. R.; MARTENS, R. J.; et al. Effects of Hyperimmune Plasma on the Severity of Pneumonia caused by *Rhodococcus equi* in Experimentally Infected Foals. **Veterinary Therapeutics**, v. 7, n. 4, p. 361–375, 2006.

CAUCHARD, J.; SEVIN, C.; BALLEST, J.-J.; TAOUJI, S. Foal IgG and opsonizing anti-*Rhodococcus equi* antibodies after immunization of pregnant mares with a protective VapA candidate vaccine. **Veterinary microbiology**, v. 104, n. 1-2, p. 73–81, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15530741>>. Acesso em: 24/2/2014.

CHAVATTE, P.; CLE, F.; CASH, R.; BIOL, M. I.; GRONGNET, J. Field Determination of Colostrum Quality by Using a Novel, Practical Method. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 1998. **Proceedings...** v. 44, 1998.

CLABOUGH, D. L.; LEVINE, J. F.; GRANT, G. L.; CONBOY, H. S. Factors associated with failure of passive transfer of colostrum antibodies in Standardbred

foals. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 5, n. 6, p. 335–40, 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1779427>>.

CROWTHER, J. R. **The ELISA Guidebook**. Totowa, NJ: Humana Press, 2009.

CSAPÓ-KISS, Z.; STEFLER, J.; MARTIN, T. G.; MAKRAY, S.; CSAPÓ, J. Composition of mares' colostrum and milk. Protein content, amino acid composition and contents of macro and micro-elements. **International Dairy Journal**, v. 5, n. 4, p. 403–415, 1995. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/095869469400014G>>.

DAVIS, R.; GIGUERE, S. Evaluation of five commercially available assays and measurement of serum total protein concentration via refractometry for the diagnosis of failure of passive transfer of immunity in foals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 10, p. 1640–1645, 2005. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2005.227.1640>>.

DAWSON, T. R. M. Y.; HOROHOV, D. W.; MEIJER, W. G.; MUSCATELLO, G. Veterinary Immunology and Immunopathology Current understanding of the equine immune response to *Rhodococcus equi*. An immunological review of *R. equi* pneumonia. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 135, n. 1-2, p. 1–11, 2010. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.12.004>>.

DEMMERS, S.; JOHANNISSON, A.; GRÖNDAHL, G.; JENSEN-WAERN, M. Neutrophil functions and serum IgG in growing foals. **Equine veterinary journal**, v. 33, n. 7, p. 676–680, 2001.

DI FILIPPO, P. A.; NOGUEIRA, A. F. S.; ANAI, L. A.; ALVES, A. E.; SANTANA, A. E.; PEREIRA, G. T. PERFIL ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS SÉRICAS E DO LÍQUIDO PERITONEAL DE EQUINOS SUBMETIDOS À OBSTRUÇÃO EXPERIMENTAL DO DUODENO, ÍLEO E CÓLON MAIOR. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 4, p. 938–946, 2010. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/cab/article/view/8783/9275>>.

DUGGAN, V. E.; HOLYOAK, G. R.; MACALLISTER, C. G.; COOPER, S. R.; CONFER, A. W. Amyloid A in equine colostrum and early milk. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 121, p. 150–155, 2008.

ERHARD, M. H.; LUFT, C.; REMLER, H. P.; STANGASSINGER, M. Assessment of colostrum transfer and systemic availability of immunoglobulin G in new-born foals using a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 85, n. 5-6, p. 164–73, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11686785>>.

ERHARD, M. H.; LUFT, C.; REMLER, H. P.; STANGASSINGER, M. Assessment of colostrum transfer and systemic availability of immunoglobulin G in new-born foals using a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 85, n. 5-6, p.

164–73, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11686785>>.

FAHEY, J. L.; MCKELVEY, E. M. Quantitative Determination of Serum Immunoglobulins in Antibody-Agar Plates. **The Journal of Immunology**, v. 94, n. 1, p. 84–90, 1965. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/content/94/1/84>>.

FAVERO, D. H. M. F.; DIAS, D. P. M.; FERINGER-JUNIOR, W. H.; BERNARDI, N. S.; LACERDA-NETO, J. C. DE. Proteínas séricas de potros da raça Puro Sangue Árabe recém-desmamados ou com mais de trinta dias de desmame. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 89–93, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2011001300015&lng=pt&nrm=iso&tlng=en>.

FLAMINIO, M. J. B. .; RUSH, B. R.; DAVIS, E. G.; et al. Characterization of peripheral blood and pulmonary leukocyte function in healthy foals. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 73, n. 3-4, p. 267–285, 2000. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242700001495>>.

FLAMINIO, M. J. B. F.; RUSH, B. R.; SHUMAN, W. Peripheral Blood Lymphocyte Subpopulations and Immunoglobulin Concentrations in Healthy Foals and Foals with *Rhodococcus equi* Pneumonia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 3, p. 206–212, 1999. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.1999.tb02180.x>>.

FOUCHÉ, N.; GRAUBNER, C.; HOWARD, J. Correlation between serum total globulins and gamma globulins and their use to diagnose failure of passive transfer in foals. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 202, n. 2, p. 384–386, 2014. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25201248>>.

FRAPE, D. **EQUINE NUTRITION AND FEEDING - THIRD EDITION**. 3º ed. 2004.

FREY JUNIOR, F. **Índices epidemiológicos em Potros Puro Sangue Inglês, do nascimento até os seis meses de vida, na região de Bagé-RS**. 2006. 42f. Tese (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FRYMUS, T.; SCHOLLENBERGER, A. Circulating B and T Lymphocytes in Foals During First Five Months of Life. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B**, v. 26, n. 9, p. 722–728, 1979. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0450.1979.tb00866.x>>.

GELSINGER, S. L.; SMITH, A. M.; JONES, C. M.; HEINRICHS, A. J. Technical note: Comparison of radial immunodiffusion and ELISA for quantification of bovine immunoglobulin G in colostrum and plasma. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 6, p. 4084–9, 2015. American Dairy Science Association. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030215002192>>.

GIGUÈRE S, GASKIN JM, MILLER C, B. J. Evaluation of a commercially available hyperimmune plasma product for prevention of naturally acquired

pneumonia caused by *Rhodococcus equi* in foals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 1, n. 220(1), p. 59–63., 2002.

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

GODOY, R. F.; SANTANA, A. E.; CAMPOS FILHO, E.; OLIVEIRA, J. V. Estudo eritroleucométrico e proteinograma sérico do sangue do cordão umbilical e jugular de eqüinos ao nascimento e de suas respectivas mães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1376–1381, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000600004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

GOODMAN, L. B.; WAGNER, B.; FLAMINIO, M. J. B. F.; SUSSMAN, K. H.; METZGER, S. M.; HOLLAND, R.; OSTERRIEDER, N. Comparison of the efficacy of inactivated combination and modified-live virus vaccines against challenge infection with neuropathogenic equine herpesvirus type 1 (EHV-1). **Vaccine**, v. 24, n. 17, p. 3636–3645, 2006.

HAAS, S. D.; BRISTOL, F.; CARD, C. E. Risk factors associated with the incidence of foal mortality in an extensively managed mare herd. **The Canadian veterinary journal. La revue vétérinaire canadienne**, v. 37, n. 2, p. 91–5, 1996. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1576626&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>>. .

HAMMER, C. J. .; TYLER, H. D. .; MILLER, P. A. EFFECTS OF ORAL ADMINISTRATION OF CONCENTRATED EQUINE SERUM IgG TO NEWBORN FOALS ON PASSIVE IMMUNITY. **Journal Of Equine Veterinary Science**, v. 20, n. 5, p. 337–338, 2000.

HICKMAN, S. A.; GILL, M. S.; MARKS, S. L.; SMITH, J. A.; SOD, G. A. Phosphate enema toxicosis in a pygmy goat wether. **Canadian Veterinary Journal**, v. 45, n. 10, p. 849–851, 2004.

HIETALA, S. K.; ARDANS, A. A. Neutrophil phagocytic and serum opsonic response of the foal to. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 14, n. 3, p. 279–294, 1987. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3109114>.

HIGUCHI, T.; ARAKAWA, T.; HASHIKURA, S.; et al. Effect of prophylactic administration of hyperimmune plasma to prevent *Rhodococcus equi* infection on foals from endemically affected farms. **Journal of veterinary medicine.**, v. 46, n. 9, p. 641–8, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10605374>>. .

HOFSAESS, F. R. TIME OF ANTIBODY ABSORPTION IN NEONATAL FOALS. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 21, n. 4, p. 158–159, 2001.

HURCOMBE, S. D. A.; MATTHEWS, A. L.; SCOTT, V. H. L.; SCOTT, V. H. L.; WILLIAMS, J. M.; KOHN, C. W.; TORIBIO, R. E. Serum protein concentrations as predictors of serum immunoglobulin G concentration in neonatal foals. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 22, n. 5, p. 573–579, 2012.

JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P. H. The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. **Equine Veterinary Education**, v. 19, n. 1, p. 38–46, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-3292.2007.tb00550.x/epdf>>. .

JEFFCOTT, L. B. PASSIVE IMMUNITY AND ITS TRANSFER WITH SPECIAL REFERENCE TO THE HORSE. **Biological Reviews**, v. 47, n. 4, p. 439–464, 1972. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-185X.1972.tb01078.x>>. .

JEFFCOTT, L. B. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. **Equine veterinary journal**, v. 6, n. 3, p. 109–115, 1974. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4137197>>. .

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 2008.

KNOTTENBELT, D. C.; LEBLANC, M.; LOPATE, C.; PASCOE, R. R. **Equine Stud Farm Medicine and Surgery**. Elsevier Science Limited. 2003.

KOHN, C. W.; KNIGHT, D.; HUESTON, W.; JACOBS, R.; REED, S. M. Colostral and serum IgG, IgA, and IgM concentrations in Standardbred mares and their foals at parturition. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 195, n. 1, p. 64–68, 1989. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2759897>>. .

KOROSUE, K.; MURASE, H.; SATO, F.; ISHIMARU, M.; KOTOYORI, Y.; NAMBO, Y. 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. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 74, n. 11, p. 1387–1395, 2012. Disponível em: <<http://jlc.jst.go.jp/DN/JST.JSTAGE/jvms/11-0470?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>>. .

KURTZ FILHO, M.; DEPRÁ, N.M.; LOPES DE ALDA, J.; CASTRO, I.N.; DE LA CORTE, F.D.; SILVA, C. A. M. Parâmetros fisiológicos e etológicos do potro recém-nascido, na raça puro-sangue de corrida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n. 2, p. 103–108, 1997.

LEBLANC, M. M.; HURTTGEN, J. P.; LYLE, S. A modified zinc sulfate turbidity test for the detection of immune status in newlyborn foals. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 10, n. 1, p. 36–39, 1990. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0737080606800808>>. .

LEBLANC, M. M.; MCLAURIN, B. I.; BOSWELL, R. Relationships among serum immunoglobulin concentration in foals, colostral specific gravity, and colostral

immunoglobulin concentration. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 189, n. 1, p. 57–60, 1986. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3733502>>. .

LEBLANC, M. M.; TRAN, T.; BALDWIN, J. L.; PRITCHARD, E. L. Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 200, n. 2, p. 179–83, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1559872>>. .

LEWIS, M. J.; WAGNER, B.; WOOF, J. M. The different effector function capabilities of the seven equine IgG subclasses have implications for vaccine strategies. **Molecular Immunology**, v. 45, n. 3, p. 818–827, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161589007004208>>.

LOPEZ, A. M.; HINES, M. T.; PALMER, G. H.; ALPERIN, D. C.; HINES, S. A. Identification of Pulmonary T-Lymphocyte and Serum Antibody Isotype Responses Associated with Protection against *Rhodococcus equi*. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 9, n. 6, p. 1270–1276, 2002. Disponível em: <<http://cvi.asm.org/cgi/doi/10.1128/CDLI.9.6.1270-1276.2002>>.

LU, K. G.; BARR, B. S.; EMBERTSON, R.; SCHAER, B. D. Dystocia-A True Equine Emergency. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 5, n. 2, p. 145–153, 2006.

LUZ, I. N. C. DA; CORTE, F. D. D. LA; ALDA, J. L. DE; SILVA, C. A. M. AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA SÉRICA APÓS PLASMOTERAPIA EM POTROS PURO SANGUE DE CORRIDA. **Ciência Rural**, v. 21, n. 3, p. 415–420, 1991. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84781991000300009&lng=pt&nrm=iso&tlng=en>. .

MANCINI, G.; CARBONARA, A. O.; HEREMANS, J. F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. **Immunochemistry**, v. 2, n. 3, p. 235–IN6, 1965. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0019279165900042>>. .

MARTI, E.; EHRENSPERGER, F.; BURGER, D.; OUSEY, J.; DAY, M. J.; WILSON, A. D. Maternal transfer of IgE and subsequent development of IgE responses in the horse (*Equus caballus*). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 127, p. 203–211, 2009.

MARTINS, C. B.; SILVA, M. A. G. DA; DUARTE, C. A.; SILVA, M. A. G.; DUARTE, C. A.; ALBERNAZ, R. M.; LACERDA NETO, J. C. MACHADO, R. Z. DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Rhodococcus equi* EM ÉGUAS VACINADAS E POTROS PELO ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO INDIRETO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 194–200, 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/5207>>. Acesso em: 24/2/2014.

MCCLURE, J. T.; DELUCA, J. L.; LUNN, D. P.; MILLER, J. Evaluation of IgG concentration and IgG subisotypes in foals with complete or partial failure of

passive transfer after administration of intravenous serum or plasma. **Equine veterinary journal**, v. 33, n. 7, p. 681–686, 2001.

MCCLURE, J. T.; MILLER, J.; DELUCA, J. L. Comparison of Two ELISA Screening Tests and a Non-Commercial Glutaraldehyde Coagulation Screening Test for the Detection of Failure of Passive Transfer in Neonatal Foals. *Proceedings AAEP 49th AAEP Ann Conv. Proceedings...* . v. 49, p.301–305, 2003. Disponível em: <<http://www.cabi.org/cabdirect/FullTextPDF/2005/20053193194.pdf>>.

MCDONALD, T. L.; LARSON, M. A.; MACK, D. R.; WEBER, A. Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A3 (M-SAA3) into colostrums. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 83, p. 203–211, 2001.

MCTAGGART, C.; PENHALE, J.; RAIDAL, S. Effect of plasma transfusion on neutrophil function in healthy and septic foals. **Australian Veterinary Journal**, v. 83, n. 8, p. 499–505, 2005. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-0813.2005.tb13304.x>>. .

MCTAGGART, C.; YOVICH, J. V.; PENHALE, J.; RAIDAL, S. L. A comparison of foal and adult horse neutrophil function using flow cytometric techniques. **Research in Veterinary Science**, v. 71, n. 1, p. 73–79, 2001.

MIZUKOSHI, F.; MAEDA, K.; HAMANO, M. IgG antibody subclass response against equine herpesvirus type 4 in horses. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 88, n. 1-2, p. 97–101, 2002. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242702001307>>. .

MORLEY, P. S.; TOWNSEND, H. G. G. A survey of reproductive performance in Thoroughbred mares and morbidity, mortality and athletic potential of their foals. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 4, p. 290–297, 1997. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-3306.1997.tb03126.x/abstract>>. .

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. **Veterinary Journal**, v. 168, n. 1, p. 28–40, 2004.

NELSON, K. Local and systemic isotype-specific antibody responses to equine influenza virus infection versus conventional vaccination. **Vaccine**, v. 16, n. 13, p. 1306–1313, 1998. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X98000097>>. .

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Validation Guideline 3.6.1 Development and Optimisation of Antibody Detection Assays**. , 2014. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/GUIDELINE_3.6.1_ANTIBODY_DETECT.pdf>. .

OUCHTERLONY, Ö. ANTIGEN-ANTIBODY REACTIONS IN GELS. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica**, v. 32, n. 2, p. 231–240, 1953. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17504404>>. .

PALTRINIERI, S.; GIORDANO, A.; VILLANI, M. Influence of age and foaling on plasma protein electrophoresis and serum amyloid A and their possible role as markers of equine neonatal septicaemia. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17644376>>. .

PARADIS, M. R. **Equine Neonatal Medicine: A Case-Based Approach**. Philadelphia, PA: Copyright © 2006 by Elsevier Inc., 2006.

PEEK, S. F.; SEMRAD, S.; MCGUIRK, S. M. Prognostic Value of Clinicopathologic Variables Obtained at Admission and Effect of Antiendotoxin Plasma on Survival in Septic and Critically Ill Foals. **J Vet Intern Med**, v. 20, p. 569–574, 2006.

PUSTERLA, N.; PUSTERLA, J. B.; SPIER, S. J.; PUGET, B.; WATSON, J. L. Evaluation of the SNAP foal IgG test for the semiquantitative measurement of immunoglobulin G in foals. **The Veterinary record**, v. 151, n. 9, p. 258–260, 2002.

RAIDAL, S. L.; MCTAGGART, C.; PENHALE, J. Effect of withholding macromolecules on the duration of intestinal permeability to colostral IgG in foals. **Australian veterinary journal**, v. 83, n. 1-2, p. 78–81, 2005.

RIBAS, L. D. M.; MORAES, C. M.; LINS, L. A.; FLORES, E. F.; NOGUEIRA, C. E. W. Fatores de risco associados a doenças respiratórias em potros Puro Sangue Inglês do nascimento ao sexto mês de vida. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1789–1794, 2009.

RIOND, B.; WENGER-RIGGENBACH, B.; HOFMANN-LEHMANN, R.; LUTZ, H. Serum protein concentrations from clinically healthy horses determined by agarose gel electrophoresis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 1, p. 73–77, 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-165X.2008.00100.x>>. .

RYAN, C. A.; SANCHEZ, L. C. Nondiarrheal disorders of the gastrointestinal tract in neonatal foals. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, v. 21, n. 2, p. 313–332, 2005.

SEDLINSKÁ, M.; KREJČÍ, J.; VYSKOČIL, M.; KUDLÁČKOVÁ, H. Postnatal Development of Blood Serum Concentrations of Immunoglobulin IgG, IgA and IgM Isotypes in Suckling Foal. **Acta Veterinaria Brno**, v. 75, n. 2, p. 175–182, 2006. Disponível em: <<http://actavet.vfu.cz/75/2/0175/>>.

SHEORAN, A. S.; HOLMES, M. A. Separation of equine IgG subclasses (IgGa, IgGb and IgG(T)) using their differential binding characteristics for staphylococcal protein A and streptococcal protein G. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 55, n. 1-3, p. 33–43, 1996. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242796056188>>.

SHEORAN, A. S.; TIMONEY, J. F.; HOLMES, M. A.; KARZENSKI, S. S.; CRISMAN, M. V. Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 9, p. 1099–1105, 2000. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/ajvr.2000.61.1099>>. .

SMITH III, R.; CHAFFIN, M. K.; COHEN, N. D.; MARTENS, R. J. Age-related changes in lymphocyte subsets of Quarter Horse foals. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 4, p. 531–537, 2002. Disponível em: <<http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/ajvr.2002.63.531>>.

TIETZ, N.W. 1970. **Fundamentals of Clinical Chemistry**. Saunders:Toronto.

TIZARD, I. R. **Veterinary Immunology An Introducion 7º Ed.** 7th ed. 2004.

TÓTHOVÁ, C.; NAGY, O.; SEIDEL, H.; KOVÁČ, G. Serum protein electrophoretic pattern in clinically healthy calves and cows determined by agarose gel electrophoresis. **Comparative Clinical Pathology**, v. 22, n. 1, p. 15–20, 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00580-011-1363-8>>. .

TYLER-MCGOWAN, C.; HODGSON, J.; HODGSON, D. Failure of passive transfer in foals: incidence and outcome on four studs in New South Wales. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 1, p. 56–59, 1997. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-0813.1997.tb13832.x>>. .

VARGAS, M.; SEGURA, Á.; VILLALTA, M. Purification of equine whole IgG snake antivenom by using an aqueous two phase system as a primary purification step. **Biologicals**, v. 43, n. 1, p. 37–46, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1045105614000992>>. .

VICTORIA CARAPETO, M.; BARRERA, R.; CINTA M. M.; ZARAGOZA, C. Serum α -globulin fraction in horses is related to changes in the acute phase proteins. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 26, n. 3, p. 120–127, 2006.

WÄLCHLI, R. O.; HÄSSIG, M.; EGGENBERGER, E.; NUSSBAUMER, M. Relationships of total protein, specific gravity, viscosity, refractive index and latex agglutination to immunoglobulin G concentration in mare colostrum. **Equine veterinary journal**, v. 22, n. 1, p. 39–42, 1990.

WAGNER, B. Immunoglobulins and immunoglobulin genes of the horse. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 30, n. 1-2, p. 155–164, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0145305X05001412>>.

WAGNER, B.; FLAMINIO, J. B. F.; HILLEGAS, J.; et al. Occurrence of IgE in foals: evidence for transfer of maternal IgE by the colostrum and late onset of endogenous IgE production in the horse. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 110, n. 3-4, p. 269–78, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16343646>>. .

WAGNER, B.; GREISER-WILKE, I.; WEGE, A. K.; RADBRUCH, A.; LEIBOLD, W. Evolution of the six horse IGHG genes and corresponding immunoglobulin

gamma heavy chains. **Immunogenetics**, v. 54, n. 5, p. 353–364, 2002.

WAGNER, B.; MILLER, D. C.; LEAR, T. L.; ANTCZAK, D. F. The Complete Map of the Ig Heavy Chain Constant Gene Region Reveals Evidence for Seven IgG Isotypes and for IgD in the Horse 1,2. , 2004.

WALKER, J. M. **The Protein Protocols Handbook - Second Edition**. 2002.

WILLIAMSON, A.; ROGERS, C. W.; FIRTH, E. C. A survey of feeding, management and faecal pH of Thoroughbred racehorses in the North Island of New Zealand. **New Zealand veterinary journal**, v. 55, n. 6, p. 337–341, 2007.

WOHLFENDER, F. D.; BARRELET, F. E.; DOHERR, M. G.; STRAUB, R.; MEIER, H. P. Diseases in neonatal foals . Part 1: The 30 day incidence of disease and the effect of prophylactic antimicrobial drug treatment during the first three days post partum. , v. 41, n. June 2005, p. 179–185, 2009.

WONG, D. M.; GIGUÈRE, S.; WENDEL, M. A. Evaluation of a point-of-care portable analyzer for measurement of plasma immunoglobulin G, total protein, and albumin concentrations in ill neonatal foals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 242, n. 6, p. 812–9, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23445294>>.