

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Vigor, variação na concentração de metabólitos sanguíneos e  
avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros  
leiteiros neonatos**

**Nathália Brito Rocha**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência  
Animal e Pastagens

**Piracicaba  
2015**

**Nathália Brito Rocha**  
**Engenheira Agrônoma**

**Vigor, variação na concentração de metabólitos sanguíneos e avaliação da  
transferência de imunidade passiva em bezerros leiteiros neonatos**

Orientador:  
Profa. Dra. **CARLA MARIS MACHADO BITTAR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência  
Animal e Pastagens

**Piracicaba**  
**2015**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Rocha, Nathália Brito

Vigor, variação na concentração de metabólitos sanguíneos e avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros leiteiros neonatos / Nathália Brito Rocha. - - Piracicaba, 2015.

99 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Colostragem 2. Refratômetro 3. Leucograma 4. Eritrograma I. Título

CDD 636.214  
R672v

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

Aos meus pais Joaquim Rocha e Rosilane Brito, rochas de inspiração e exemplo de determinação em todo o tempo, ainda mais à Jesus, meu amigo fiel, *“porque nele foram criadas todas as coisas que há nos céus e na terra, visíveis e invisíveis, sejam tronos, sejam dominações, sejam principados, sejam potestades. Tudo foi criado por ele e para ele.*

*E ele é antes de todas as coisas, e todas as coisas subsistem por ele”.* (Colossenses 1.16-7),

**Dedico**



Agradeço,

A minha família pela constante motivação em crer no 'impossível' e por se alegrar em vê-lo realizado,

A minha família em Cristo, especialmente a Ivone e Érica Pina, que me amaram quando mais precisei, me acolhendo sob suas asas,

A professora Carla Bittar, por acreditar no meu trabalho, dividindo comigo além do tempo o seu saber, me ajudando a construir conhecimentos importantes para minha vida profissional,

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Metabolismo Animal, às corajosas *Bezerret's* pela inestimável ajuda, companheirismo e por tornarem amenas as mais penosas tarefas,

Agradeço ao Centro de Práticas Zootécnica (CPZ-ESALQ) pela colaboração,

Agradeço aos funcionários do Centro de Treinamento em Recursos Humanos ESALQ/USP, pela ajuda e por desempenharem seu trabalho com zelo e dedicação,

Agradeço a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional Centro Leste - Ribeirão Preto, pela parceria,

Às fazendas Colorado e 2N pela disponibilização dos animais,

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa,

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro.

*“Quem caminha sozinho chegará mais rápido, mas aquele que vai acompanhado chegará mais longe.”*

*Desconhecido*



*“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine. E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria. E ainda que distribuísse toda a minha fortuna para sustento dos pobres, e ainda que entregasse o meu corpo para ser queimado, e não tivesse amor, nada disso me aproveitaria.”*  
1 Coríntios 13:1-3.





## SUMÁRIO

RESUMO .....	11
ABSTRACT.....	13
1 INTRODUÇÃO .....	15
1.1 Revisão Bibliográfica .....	15
1.1.1 Vitalidade de bezerros neonatos .....	15
1.1.2 Sistema imune em bovinos neonatos .....	17
1.1.3 Status hematológico de bezerros recém nascidos .....	19
1.1.4 Colostro .....	20
1.1.5 Imunoglobulinas .....	24
1.1.6 Colostragem .....	26
1.1.7 Avaliação da Transferência de Imunidade Passiva .....	29
Referências .....	33
2 VIGOR E VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E METABÓLITOS SANGUÍNEOS EM BEZERROS NEONATOS EM FUNÇÃO DO CONSUMO DE COLOSTRO .....	41
Resumo .....	41
Abstract .....	41
2.1 Introdução .....	42
2.2 Material e Métodos .....	43
2.2.1 Metodologia analítica .....	44
2.2.2 Análise dos dados .....	45
2.3 Resultados e Discussão .....	46
2.3.1 Parâmetros metabólicos .....	54
2.4 Conclusão .....	61
Referências .....	62
3 EFEITO DO HORÁRIO DA COLHEITA DE AMOSTRAS DE SANGUE NA AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA EM BEZERROS LEITEIROS .....	67
Resumo .....	67
Abstract .....	68
3.1 Introdução .....	68
3.2 Material e Métodos .....	70
3.2.1 Animais e Manejo .....	70

3.2.2 Metodologia analítica .....	71
3.2.3 Eritograma .....	72
3.2.4 Volume globular médio (VGM) .....	73
3.2.5 Leucograma .....	73
3.2.6 Contagem diferenciada de Leucócitos .....	74
3.2.7 Análise Estatística .....	75
3.3 Resultados e Discussão .....	75
3.3.1 Produção de Colostro .....	75
3.3.2 Parâmetros sanguíneos.....	77
3.3.3 Eritograma e Leucograma .....	85
3.3.4 Concentração Enzimática .....	88
3.4 Conclusão .....	92
Referências .....	93
ANEXO .....	99

## RESUMO

### **Vigor, variação na concentração de metabólitos sanguíneos e avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros leiteiros neonatos**

O objetivo deste trabalho foi identificar o padrão de vigor e status metabólico através da determinação da frequência dos sinais objetivos e metabólitos sanguíneos após o nascimento, possivelmente associados à transferência de imunidade passiva, além de determinar o melhor horário para o uso do refratômetro de Brix na avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos após a ingestão de colostro. No primeiro experimento foram utilizados 46 bezerros neonatos de ambos os sexos, nascidos entre setembro de 2013 e julho de 2014. A avaliação do vigor dos animais foi realizada entre 15 e 30 minutos após o nascimento com o auxílio da escala APGAR modificada pela Universidade de Guelph. A colheita de sangue para análise de metabólitos seguiu os horários de 0h (antes da ingestão), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h contadas a partir da ingestão do colostro. Os parâmetros sanguíneos foram determinados por kit enzimático específico para cada parâmetro em Sistema Automático para Bioquímica. Todos os animais utilizados neste estudo foram oriundos de partos eutócicos e apresentaram, de acordo com a escala APGAR, vigor satisfatório. As concentrações de metabólitos sanguíneos dos neonatos mostraram que o consumo de colostro aumentou a disponibilidade de energia e a concentração de frações proteicas, comumente utilizadas como indicativos da transferência de imunidade passiva. No segundo experimento foram utilizados 47 bezerros neonatos de ambos os sexos, nascidos entre março e julho de 2014. O colostro foi ordenhado após o parto e a qualidade determinada com auxílio do colostrômetro e do refratômetro digital. A colheita do sangue para a análise dos parâmetros sanguíneos seguiu os horários de 0h (antes da ingestão), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96 e 120h, contadas a partir da ingestão do colostro. A concentração de proteína total foi determinada por refratômetro de Brix e por kit enzimático em Sistema Automático para Bioquímica. Os demais parâmetros sanguíneos foram determinados por kit enzimático específico para cada parâmetro em Sistema Automático para Bioquímica. A contagem global e diferenciada das células sanguíneas foi realizada nos tempos 0, 12 e 24h após o fornecimento do colostro. O colostro se manteve na faixa de boa qualidade, segundo os critérios de classificação de medidas pelo colostrômetro e refratômetro digital de Brix. O consumo de colostro foi o principal fator de variação dos parâmetros estudados neste trabalho. A avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos deve ser realizada por volta das 24 horas após a ingestão do colostro, pois neste momento a absorção de macromoléculas colostrais já está encerrada e a PT alcança estabilidade. A partir deste período, não é possível determinar se as frações proteicas avaliadas são de origem colostrálica ou endógena, o que não garante avaliação segura sobre a transferência de imunidade passiva.

Palavras-chave: Colostragem; Refratômetro; Leucograma; Eritrograma



## ABSTRACT

### **Vigor, variation in blood metabolites concentration and evaluation of passive immunity transfer in newborn dairy calves**

The objective of this study was to identify the vigor and metabolic status through the determination of objective signs and blood metabolites just after birth of dairy calves, possibly associated with the passive immunity transfer. Also, determine the best time after colostrum intake to estimate the passive immunity transfer using a Brix refractometer. The first trial evaluated 46 newborn calves, males and females, born from September 2014 to July 2014. Animals' vigor evaluations were carried out between 15 and 30 minutes after birth using the APGAR scale modified by the University of Guelph. The blood sample collection for metabolites analysis were done at 0h (before intake), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, and 48h after colostrum intake. Blood parameters were analyzed by enzymatic kits using an automatic biochemical system. All animals were born from eutocic births and presented, according to the APGAR scale, satisfactory vigor. The newborns metabolites blood concentrations revealed that colostrum intake increased the energy availability and the concentration of protein fractions, commonly used as indicative of passive immunity transfer. For the second trial 47 newborn calves of both sexes, born from March and July 2014, were used. The colostrum was milked after parturition and quality was determined using a colostrometer and digital Brix refractometer. Blood samples were taken from calves at 0h (before intake), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 120h and 96, after colostrum intake. The total protein (TP) concentration was measured by a Brix refractometer and an enzymatic kit using an automatic biochemical system. Other blood parameters were determined by specific enzyme kit for each parameter in Automatic System for Biochemistry. The global and differential blood cell count were performed at times 0, 12 and 24h after colostrum feeding. Colostrum has remained in the range of good quality according to the criteria of classification measures by colostrometer and digital Brix refractometer. Colostrum intake was the main factor of variation of the studied parameters. The evaluation of the passive transfer of immunity to newborn calves should be performed at about 24 hours after colostrum intake, because at this time, the absorption of colostrum macromolecules is already finished and TP reaches stability. From this period, it is not possible to determine whether the assessed protein fractions are from colostrum or endogenous origin, which does not guarantee reliable assessment on the transfer of passive immunity.

Keywords: Colostrum feeding; Refractometer; Leucogram; Erythrogram



## **1 INTRODUÇÃO**

Na pecuária leiteira, aspectos relacionados as condições físicas e metabólicas de bezerros recém-nascidos devem ser observados desde o momento do nascimento, condição que associada ao manejo pós-parto, mais precisamente ao fornecimento de colostro, deve ser considerada para garantir uma colostragem de sucesso.

Destacando a qualidade, a quantidade e o tempo entre o nascimento e o fornecimento do primeiro colostro, a avaliação da condição de nascimento do bezerro se torna uma importante ferramenta no acompanhamento individual e na tomada de decisão, e que em casos mais delicados, a possibilidade de reconhecimento de sinais imediatos pode favorecer o estabelecimento de uma condição de saúde e desempenho satisfatórios ao longo da vida produtiva, podendo atuar como ferramenta de auxílio na avaliação da transferência de imunidade passiva.

Por isto é importante a determinação dos padrões para os principais parâmetros de diagnóstico imediato e metabólicos, além da recomendação para o melhor momento de avaliação da transferência de imunidade. Padrões que podem influenciar na correta intervenção a partir da observação do vigor e parâmetros sanguíneos de bezerros recém-nascidos.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi identificar o padrão de vigor e status metabólico através da determinação da frequência dos sinais objetivos e metabólitos sanguíneos após o nascimento possivelmente associados à transferência de imunidade passiva, além de determinar o melhor horário para o uso do refratômetro de Brix na avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos após a ingestão de colostro.

### **1.1 Revisão Bibliográfica**

#### **1.1.1 Vitalidade de bezerros neonatos**

O conjunto de dificuldades apresentadas durante o parto pode determinar, além da sobrevivência do neonato, o desenvolvimento e o estabelecimento da saúde do animal ao longo da vida (LOMBARD et al., 2007).

Uma das ferramentas que podem ser utilizadas na avaliação da condição perinatal em bezerros leiteiros é a escala Apgar. Inicialmente idealizada para ser um método prático na avaliação da condição de recém-nascidos humanos no prazo de



um minuto após o nascimento, a escala Apgar foi elaborada a partir de uma lista de sinais objetivos que podem ser avaliados no recém-nascido, tais como o esforço respiratório, irritabilidade reflexa, tônus muscular, frequência cardíaca e coloração. Com classificação que varia entre zero, um e dois, para cada sinal, dependendo se este está ausente ou presente. A melhor condição possível recebe pontuação 10, sendo dois pontos para cada parâmetro (APGAR, 1953). Este teste deve ser realizado no primeiro, quinto e 10º minutos de vida do neonato, após completo nascimento, que compreende a exclusão do cordão umbilical e da placenta e a desobstrução das vias aéreas superiores (LOTH et al., 2001). Este período coincide com a depressão máxima do recém-nascido e por isto é que a escala é aplicada nesse momento (FINSTER; WOOD, 2005).

Na medicina veterinária são poucos os estudos que consolidam a utilização do escore Apgar para diferentes espécies. Na década de 1980, após receber algumas adaptações, o teste foi introduzido na neonatologia veterinária, sendo os primeiros trabalhos em animais realizados com a espécie equina (CASTAGNETTI et al., 2010). Posteriormente começou-se a utilização em bovinos (SCHULZ et al., 1997), suínos (ALONSO-SPILSBURY et al., 2005), caninos (LAVOR et al., 2004; GABAS et al., 2006), ovinos e caprinos, sendo que para cada espécie foram realizadas diversas adaptações (VASSALO et al., 2014).

Em 1981, Born fez adaptações da escala Apgar para possibilitar a sua utilização na avaliação de vitalidade de bezerros neonatos. Em seu trabalho, foi observada a correlação entre o atraso do nascimento e os valores mais baixos para o escore Apgar, assim como no caso bezerros nascidos de partos distócicos.

Este foi um passo importante na neonatologia veterinária de bovinos, pois estudos constataram que durante o parto e logo após a ruptura do cordão umbilical, há uma ativação do sistema simpático adrenal fazendo com que haja um incremento na liberação de catecolaminas na primeira hora de vida. Este processo afeta a capacidade de adaptação de recém-nascido, ocasionando acentuadas respostas fisiológicas, como aumento da frequência respiratória e cardíaca, podendo influenciar a capacidade pulmonar do neonato (AURICH et al., 1993). Adicionalmente, animais que sofrem hipóxia ao nascimento têm uma tendência de diminuição da sua atividade física, apresentando-se letárgicos, com dificuldade de ficar de pé e se amamentar, podendo apresentar mucosas cianóticas ou pálidas (BENESI, 1993).

O escore Apgar está relacionado com o tipo de parto do qual o recém-nascido é oriundo, de forma que os animais nascidos de partos eutócicos tendem a apresentar escore Apgar mais elevado em comparação com aqueles que nascidos de partos distócicos (SILVA et al., 2008). A distocia, caracterizada como dificuldade ou conjunto de dificuldades apresentadas na evolução do trabalho de parto (MEYER et al., 2001), é um dos problemas que podem interferir na vitalidade do neonato. Dificuldade esta que geralmente está associada com a incompatibilidade de tamanhos entre a vaca e o bezerro, principalmente em primíparas, e apresentação anômala do feto no caso de vacas multíparas (ANDERSEN, 1993). Estudos mostram que bezerros nascidos de partos distócicos são mais susceptíveis as mudanças ambientais sendo que as dificuldades no parto podem ainda comprometer o vigor dos bezerros por conta da anoxia. Este é um fator que pode influenciar o vigor do bezerro durante as primeiras horas após o nascimento e durante a alimentação com o colostro (LOMBARD et al., 2007; VASSEUR et al., 2009). Estes são fatores que se relacionam com a falta de oxigênio durante a gestação ou durante o parto, processo que pode levar o bezerro a uma condição de acidose metabólica (WILSON et al., 1976). Assim, animais nascidos com hipóxia comumente se apresentam letárgicos, com dificuldade para se levantar e amamentar (ALBRIDGE et al., 1992; WHITE, 1993), dificuldade para respirar e coloração de mucosas pálida (BENESI, 1993). Além de menor capacidade de regulação da sua temperatura corporal (VERMOREL et al., 1989; BELLOWS, LAMMOGLIA, 2000; GASPARELLI et al., 2009). O quadro pode ser ainda mais agravado, pois a ocorrência de acidose grave pode ainda levar o indivíduo a uma diminuição na absorção de imunoglobulinas (BOYD, 1989), comprometendo a transferência de imunidade passiva.

### **1.1.2 Sistema imune em bovinos neonatos**

Durante o período gestacional, a placenta é o órgão responsável pelo transporte de nutrientes para suprimento fetal. Glicose e aminoácidos são algumas das substâncias que são transportadas através da membrana placentária assim como as vitaminas hidrossolúveis e os esteroides, sendo os primeiros fonte de energia para o feto. A placenta assume, portanto, muitas das funções vitais, em grande parte deste período em que os órgãos do feto estão em desenvolvimento.

Formada pela aposição das membranas fetais justapostas ou em fusão com a mucosa uterina, a placenta apresenta variações entre as espécies. A classificação deste órgão considera o tipo de relação estabelecida entre a mãe e o feto quanto à origem vascular, morfologia e conformação histológica (REECE, 2006; BROLIO et al., 2011). Nos mamíferos, a estrutura placentária se desenvolve inicialmente como uma placenta coriovitelinica, conformação na qual a vasculatura do saco vitelínico se une com o córion. Com o desenvolvimento da gestação, esta união involui dando lugar a fusão do córion com o alantoide, estabelecendo a partir daí a placenta definitiva do tipo corioalantoide (ROA; SMOK; PRIETO, 2012).

Nos bovinos, a classificação do arranjo placentário, quanto ao número de barreiras que se interpõe entre o sangue fetal e o materno, é tida como do tipo sindesmocorial. Nesta formação, o trofoblasto se implanta nos tecidos uterinos com pouca ou nenhuma destruição dos tecidos maternos, apresentando os capilares fetais e maternos separados pelos endotélios de ambos os capilares e também pelo epitélio coriônico e pelo epitélio uterino (SAMUELSON, 2007).

Como efeito deste tipo específico de formação, ocorre a produção de uma barreira entre os sistemas imunes da mãe e do feto, o que favorece a sobrevivência do concepto no útero pela proteção conferida contra respostas imunes materna, impedindo que este seja reconhecido como corpo estranho (ROA; SMOK; PRIETO, 2012). Porém, o efeito da proteção desta conformação histológica atua também como barreira ao fluxo de hormônios proteicos e imunoglobulinas (Ig) entre a corrente sanguínea da mãe e do bezerro durante o período gestacional. Esta barreira e seus efeitos podem ser comprovados através da concentração de Ig plasmática abaixo do nível de detecção mínima pelo método de imunoinsaio turbidimétrico em recém-nascidos (QUIGLEY et al., 2002).

Ainda no início do período de gestação é possível identificar a formação dos principais órgãos do sistema imunológico nos conceptos bovinos, o que os torna capazes de apresentar, mesmo na fase do desenvolvimento uterino, certo nível de resposta antigênica para algumas das principais doenças que ocorrem nesta espécie (TIZARD, 1998). Esta resposta é resultante da atividade de elementos de resposta humoral presentes como complemento da atividade imune, que em bezerros são encontrados em níveis mais baixos que os observados em animais adultos. Dentre estes componentes, uma parte é reconhecida como linfócitos do tipo células T, que nesta fase apresenta desenvolvimento simultâneo com outras células brancas no

sangue. Com a aproximação do momento do parto esta capacidade é perdida em função do efeito cumulativo de hormônios produzidos pela vaca e pelo feto (CHASE; HURLEY; REBER, 2008; CORTESE, 2008).

No momento do nascimento ocorre uma brusca mudança de ambiente para o bezerro. Com a saída do útero, um lugar estéril, para um ambiente rico em microrganismos, muitos deles inofensivos a um animal adulto, podem no entanto representar uma ameaça ao organismo que ainda apresenta um sistema de defesa imaturo. Com isso, é necessário que a proteção seja prontamente oferecida ao neonato, de forma que os anticorpos estejam aptos e em quantidade suficiente para desempenharem o papel de proteção no organismo.

### **1.1.3 Status hematológico de bezerros recém nascidos**

Leucócitos é a denominação dada a classe de células genericamente conhecida como glóbulos brancos. Compreendem três tipos principais: os granulócitos, os monócitos e os linfócitos. Os dois primeiros são formados na medula óssea e os linfócitos são formados nos tecidos linfáticos, como o baço e os nódulos linfáticos. Os granulócitos compreendem os eosinófilos, os neutrófilos e os basófilos, também chamados de polissegmentados, pelas suas características nucleares quando adultos. Em contrapartida os linfócitos e os monócitos são chamados de mononucleares ou agranulócitos, pois apresentam núcleo único e granulocitos distribuídos no citoplasma. A atividade dos leucócitos se dá no processo de inflamação, quando atuam na identificação e neutralização de antígenos tanto endógenos como exógenos. As alterações leucocitárias, a leucocitose e a leucopenia, refletem principalmente o número dessas células circulantes no sangue e estão em geral associadas à quadros patológicos. Porém, em algumas situações essa alteração no número de leucócitos podem estar associada as alterações fisiológicas a exemplo da neutrofilia fisiológica, causada por uma liberação súbita do neutrófilos, podendo ocorrer após a alimentação, na gestação ou mesmo após atividade física. (GARCIA-NAVARRO, 2005). A neutrofilia fisiológica foi relatada por Paes et al. (2012) em bezerros de corte, que constataram alterações na contagem de leucócitos totais no desmame de bezerros. Estes autores observaram a elevação das contagens de leucócitos totais e neutrófilos compatíveis com a liberação de leucócitos do

compartimento marginal, provavelmente em função do estresse das primeiras 12 horas após o desmame.

Quanto a contagem de linfócitos, em animais jovens pode ocorrer a linfocitose infanto juvenil. Esta condição se apresenta quando os animais apresentam índices linfocitários mais elevados que os adultos, o que ocorre em função da atividade imunogênica ser mais intensa nesta fase (GARCIA-NAVARRO, 2005).

#### **1.1.4 Colostro**

O colostro é uma forma única de leite produzido nas glândulas mamárias de mamíferos ao parto. Sua síntese tem início no final da gestação e apresenta rendimento limitado, embora com altas concentrações de Imunoglobulinas G (IgG) (LIU et al., 2008). O colostro contém aproximadamente duas vezes a quantidade de sólidos totais quando comparado com o leite (Tabela 1.1), conta ainda com uma alta concentração de gordura e baixa quantidade de lactose, além de um maior traço de minerais e vitaminas (DAVIS; DRACKLEY, 1998). Atua como importante fonte de nutrientes, sendo o principal veículo de transferência de imunidade, pois é constituído de muitas das substâncias biologicamente ativas essenciais para funções específicas do organismo, bem como para a sobrevivência e desenvolvimento dos neonatos. Dentre estas substâncias estão algumas que desempenham papel de promotoras de crescimento e outras em defesa do organismo, as imunoglobulinas (Ig) (PAKKANEN; AALTO, 1997; KLEINSMITH, 2010).

Tabela 1.1 - Características e composição do Colostro e do leite de vacas holandesas

Variável	Colostro (Ordenha pós-parto)			
	1	2	3	Leite
Gravidade específica	1,056	1,040	1,035	1,032
Sólidos Totais (%)	23,9	17,9	14,1	12,5
Gordura (%)	6,7	5,4	3,9	3,6
Sólidos não-gordura (%)	16,7	12,2	9,8	8,6
Proteína Total (%)	14	8,4	5,1	3,2
Caseína (%)	4,8	4,3	3,8	2,5
Albumina (%)	0,9	1,1	0,9	0,3
Imunoglobulina (%)	6,0	4,2	2,4	0,09
IgG (g/100 mL)	3,2	2,5	1,5	0,06
NNP (% de N Total)	8,0	7,0	8,3	4,9
Lactose (%)	2,7	3,9	4,4	4,9
Cálcio (%)	0,26	0,15	0,15	0,13
Magnésio (%)	0,04	0,01	0,01	0,01
Potássio (%)	0,14	0,13	0,14	0,15
Sódio (%)	0,14	0,13	0,14	0,15
Cloro (%)	0,12	0,10	0,10	0,07
Zinco (mg/100mL)	1,22	-	0,62	0,30
Manganês (mg/100mL)	0,02	-	0,01	0,004
Ferro (mg/100 mL)	0,2	-	-	0,05
Cobre (mg/100g)	0,06	-	-	0,01
Cobalto (µg/100g)	0,5	-	-	0,1
Vit A (µg/100 mL)	295	190	113	34
Vit E (µg/g gordura)	84	76	56	15
Caroteno a (µg/g gordura)	103,3	-	-	11,3
Riboflavina (µg/mL)	4,83	2,71	1,85	1,47
Ácido Pantotênico (µg/mL)	1,73	-	3,20	3,82
Vit B12 (µg/100mL)	4,9	-	2,5	0,6
Ácido Fólico (µg/100mL)	0,8	-	0,2	0,2
Colina (mg/mL)	0,70	0,34	0,23	0,13
Ácido ascórbico (mg/100mL)	2,5	-	2,3	2,2

NNP = Nitrogênio não proteico  
(DAVIS; DRACLEY, 1998)

Estas últimas, no caso particular dos bovinos, por não serem capazes de atravessar a barreira placentária e assim serem transferidas para o feto ainda no

ambiente uterino, devem ser transferidas ao bezerro via oral, na colostragem, durante as primeiras horas de vida.

A imunidade passiva é conferida ao neonato pelo componente principal e mais desejável no colostro bovino, as imunoglobulinas, que assim como a maior parte dos componentes do colostro, são derivadas do sangue materno (BRANDON; WATSON; LASCELLES, 1971) e são transportadas da corrente sanguínea, por transcitose através do epitélio celular da glândula mamária durante a colostrogênese (BAUMRUCKER et al., 2010). Presente no colostro e no leite, a IgG é considerada como o principal componente imunológico do sistema imune adquirido, podendo ser dividida em duas subclasses, IgG1 e IgG2, sendo a primeira a mais abundante no leite, no colostro e no sangue da espécie bovina. As outras classes de imunoglobulinas, IgA, IgM, IgD e IgE, também são encontradas nestes fluídos porém estão presentes em concentrações muito reduzidas na secreção láctea (LARSON; HEARY; DEVERY, 1980; STELWAGEN et al., 2008; BARRINGTON et al., 1997).

Iniciada cerca de quatro semanas antes do parto, a colostrogênese apresenta um período marcado pelo aumento nas concentrações séricas de estrogênio, corticosteroides, hormônio do crescimento e prolactina, componentes que atuam como reguladores ativos deste processo (BARRINGTON et al., 1997). Nesta fase, o animal passa por um período de transição da fase não lactante para a de lactante, o qual é caracterizado pelo aumento da demanda da glândula mamária por glicose, aminoácidos, ácidos graxos, minerais e vitaminas (GONÇALVES; BORGES; FERREIRA, 2009).

A colostrogênese é dividida em duas etapas principais. A primeira fase é caracterizada pela produção de fluído com uma pequena quantidade de fatores de crescimento e outras substâncias transformadoras, que são liberadas para o desenvolvimento do tecido mamário (KLEINSMITH, 2010), período no qual há um aumento nos níveis séricos de IgG relacionado com a colostrogênese (ANTONIAZZI et al., 2009). É nesta fase que ocorre a transferência das secreções de imunoglobulinas séricas para o conteúdo alveolar, apresentando um maior fluxo de Ig sérico para a secreção a partir do 10<sup>o</sup> dia do pré-parto (GUY et al., 1994; BARRINGTON et al., 1997;). A segunda fase é caracterizada pela secreção copiosa, ocorrente entre 4 e 0 dias antes do parto (GUY et al., 1994).

A  $\alpha$ -Lactalbumina ( $\alpha$ -LA), um componente do complexo lactosintetase, é uma proteína de secreção induzida durante a lactogênese. É ela a responsável por impedir

que as junções intercelulares das células do epitélio mamário se tornem aptas à secreção de leite antes do parto. Esta proteína apresenta aumento nos índices séricos por volta do 14<sup>o</sup> até o parto, característica padrão, que reflete a crescente diferenciação e atividade sintética das glândulas mamárias, tendo os seus níveis relacionados inversamente aos níveis séricos de Ig (GUY et al., 1994).

Progressivamente, por volta da segunda semana que antecede o parto, há uma drástica redução nos níveis séricos de progesterona (P4), outro hormônio envolvido na dinâmica da fase de transição. A P4 atua como inibidor da colostrogênese ao se ligar aos receptores associados a glicocorticoides durante a gestação, revestindo a glândula mamária e impedindo estes mesmos receptores de secretar qualquer fluido na glândula durante a maior parte do período de gestação. A progesterona também influencia o aparecimento de receptores específicos na superfície das células do epitélio da glândula mamária, que irão facilitar a transferência de imunoglobulinas do sangue da mãe para dentro da glândula (MACHADO NETO et al., 2004).

Após o parto, a expulsão da placenta marca a drástica redução das taxas de progesterona circulante, de forma que o fator inibidor da secreção é removido e simultaneamente há o desenvolvimento de substâncias de base proteica nas células que revestem a glândula mamária (KLEINSMITH, 2010). Após a redução nos níveis de P4, dá-se início a transferência de imunoglobulina para o colostro, que tem o pico de concentração logo no momento do parto, diminuindo rapidamente depois disso (SÁNCHEZ-MACÍAS et al., 2014).

Outros fatores como raça e paridade estão relacionados com a quantidade de Ig no colostro. O número de lactações afeta a gravidade específica do colostro e vacas de terceira lactação tem maiores valores de Ig que animais de segunda lactação. Isto foi observado por Franklin et al. (2005) que detectaram além da influência sobre o valor total de Ig, a diferença entre as concentrações e mobilização de IgG1 e IgG2 e as prováveis razões para o predomínio de IgG1 no colostro. Neste estudo foi observado decréscimo na concentração da IgG1 sérica ao longo do tempo, concomitante ao decréscimo da proteína sérica total. Foram observadas reduções nas concentrações de IgG1 em vacas de segunda lactação de 575mg/dL à quarta semana anterior ao parto comparado com 824mg de IgG2 por dL, em vacas com acima de duas lactações. Esta redução está relacionada à mobilização das classes de Ig da corrente sanguínea materna para o conteúdo alveolar na glândula mamária, além de



ser um indicativo da maior expressão de receptores de IgG1 na glândula mamária de vacas mais velhas.

No caso da influência da raça sobre a concentração de Ig colostrar a grande quantidade de imunoglobulina no colostro pode estar relacionada com o menor volume de colostro produzido e a idade ao primeiro parto mais tardia em cruzamentos zebuínos. Este último ponto pode favorecer a concentração de Ig em função do maior tempo de exposição das novilhas a antígenos, diminuindo a diferença de disponibilização de Ig para o colostro entre as ordens de parto (SILPER et al., 2012).

### 1.1.5 Imunoglobulinas

O termo imunoglobulina é utilizado para denominar uma família de proteínas heterogêneas de grande peso molecular que possuem características físico-químicas comuns e determinantes antigênicos específicos. Encontradas no soro e outros fluidos de animais, estão listadas nesta classificação todas as moléculas com atividade imune presentes no organismo (BUTLER, 1969). Por terem em comum a porção das cadeias polipeptídicas, chamadas 'leves', para todas as classes de imunoglobulinas, as diferenças antigênicas e físico-químicas estão nas cadeias polipeptídicas chamadas 'pesadas', a partir da qual as classes de Imunoglobulinas são nomeadas da seguinte forma, 'γ' para a IgG, 'μ' para IgM, 'α' para IgA, 'δ' para IgD, e 'ε' para IgE (CHAIRMAN et al., 1970). A glândula mamária bovina, apesar de não ter a capacidade de sintetizá-las, é a responsável pela regulação ativa da concentração das diferentes imunoglobulinas presentes no colostro e no leite (STELWAGEN et al., 2008).

O epitélio mamário apresenta variação inversa entre a seletividade dos corpos imunitários e a atividade sintetizadora (GUY et al., 1994). Isto se dá com o avanço da lactação, quando o incremento na quantidade de leite sintetizado pelas células epiteliais mamárias resulta no decréscimo da seletividade de imunoglobulinas e outros componentes particulares do colostro, apresentando ainda variação nas concentrações para os tipos de IgG.

Obedecendo a uma dinâmica hormonal, a transferência de IgG, do sangue materno para o lúmen alveolar, é feita através de receptores localizados nas células epiteliais mamárias que as capturam do fluído extracelular por meio da endocitose (KEHOE et al., 2007). Estes mesmos receptores deixam de ser expressos pelo epitélio mamário em provável resposta ao aumento dos níveis de prolactina no início da

lactação (BARRINTON et al., 1997). O processo de transporte da IgG acontece quando os receptores específicos para este anticorpo, presentes nas células epiteliais alveolares, apresentam a transferência de imunoglobulina regulada negativamente pelo aumento da concentração de prolactina durante lactogênese (SÁNCHEZ-MACÍAS et al., 2014).

A diminuição do IgG e outros componentes, como lactoferrina e IgA, ocorre de forma acentuada nas primeiras horas após o parto (SACERDOTE et al., 2013). Efeito influenciado pela prolactina, que atua como inibidor mesmo em níveis basais, pois ainda não sendo suficiente para desencadear a atividade lactogênica por completo é capaz de diminuir a expressão de receptores de IgG1 no tecido glandular. Com o papel de promotora da atividade lactogênica, a prolactina atua também como um sinalizador cessação da colostogênese (BARRINGTON et al., 1999).

Além da atuação hormonal no processo da colostogênese, a massa de anticorpos secretada na glândula mamária é determinada também pela quantidade de tecido presente sob influência da expressão gênica. Porém, essa quantidade de tecido mamário, apesar de proporcionar uma maior produção de leite, não se equivale para a transição de IgG em quantidade tanto para o colostro quanto para o leite. A concentração de IgG é dependente do fluxo de água para a células do epitélio mamário durante a formação do colostro, porém a massa total deste componente independe da quantidade de água e está relacionada a seletividade expressa pelas células envolvidas na colostogênese (BAUMRUKER et al., 2010).

Aproximadamente 64% dos sólidos totais presentes no colostro é representado por proteína, da qual a imunoglobulina G responde por aproximadamente 47%, sendo 90% representado pela IgG1 (FLEENOR; STOTT; 1980; FRANKLIN et al., 2005). Esta proporção suficientemente alta para exercer influência na gravidade específica do colostro. Outros componentes da fração sólida, como a lactose e a albumina, ocorrem em pequenas quantidades e mostram não alterar significativamente este parâmetro. Dentre os constituintes colostrais, a IgG apresenta maior coeficiente de variação, o que indica ser a imunoglobulina o fator de maior impacto nesta característica. Observando este aspecto, o colostrômetro foi desenvolvido incorporando a escala de gravidade específica do leite, do hidrômetro convencional, em correspondência com a concentração de IgG no colostro. Apesar de não envolver uma medida analítica, esta ferramenta pode ser usada para a avaliação qualitativa do colostro ou para estimar a quantidade de Ig. A equação de

regressão utilizada na calibração do colostrômetro é baseada unicamente nos constituintes do colostro fresco e é portanto, válido somente para o colostro. No caso do leite integral, a gravidade específica corresponde a uma concentração de IgG de 14,16mg/mL, porém apresenta uma concentração real menor que 5mg/mL. Esta diferença é o resultado direto da diferença entre o colostro e o leite (FLEENOR; STOTT, 1980).

Além de rico em fatores imunitários, o colostro é também uma fonte de antibióticos, caracterizados na forma de leucócitos. Representados principalmente por aproximadamente 23% de linfócitos, 38% neutrófilos e 40% de macrófagos, estas células podem sobreviver por até 36 horas no intestino dos bezerros recém nascidos e algumas delas podem ter acesso pela parede intestinal através do epitélio das placas de peyer e alcançam os ductos lácteos ou os linfonodos mesentéricos do bezerros (TIZARD, 2008). No trabalho realizado por Gomes et al. (2011) todas as classes de leucócitos foram encontrados no colostro bovino, exceto os basófilos. Ainda neste trabalho, do total de células da população observada pela técnica de microscopia direta, foi composta predominantemente por leucócitos mononucleares.

Ainda há controvérsia quanto a contribuição destas células para a saúde dos bezerros. Sabe-se porém que estas células possuem a capacidade de resistir no trato intestinal devido à falta de protease encontrada no intestino nas primeiras 24 horas de vida e a presença de inibidores como o inibidor de tripsina. Além disso, quando o colostro é fornecido ao bezerro recém-nascido, os leucócitos tem acesso a circulação sanguínea (TIZARD, 2008).

### **1.1.6 Colostragem**

A ingestão do colostro é importante para o estabelecimento da imunidade neonatal em bezerros, além de desempenhar um papel importante no desenvolvimento morfológico e funcional do trato gastrointestinal de bezerros, a primeira colostragem é também responsável por mudanças metabólicas e endócrinas nesta fase (BLUM; HAMMON, 2000). Neste aspecto, o tempo entre o nascimento e a primeira alimentação é um dos principais fatores que podem influenciar na aquisição de imunidade para os bovinos, pois é ainda nas primeiras horas de vida que deve ser garantido ao recém-nascido o aporte de células de defesa de origem exógena.

O período em que o evento denominado *'open gut'* ocorre, determina a habilidade única e temporária dos neonatos de espécies ruminantes em absorver de forma não seletiva e intacta macromoléculas, tais como as imunoglobulinas (Ig) (GODDEN, 2008). Neste período, quando as células do epitélio intestinal permitem a passagem de macromoléculas, e a absorção de IgG é máxima durante as primeiras 4 horas pós-parto. No entanto, este potencial é reduzido após as primeiras 6 horas de vida, dando seguimento ao evento *'closure'*, no qual há um declínio progressivo da eficiência de absorção, após um período de aproximadamente 12 horas de vida até se fechar completamente em um prazo de aproximadamente 24 horas após o nascimento (ROY, 1990; GODDEN, 2008).

Osaka et al. (2014), ao estudarem o efeito da massa de Ig e da idade na concentração de IgG sérica em bezerros holandeses, observaram menor eficiência de absorção de IgG para grupos de animais alimentados tardiamente, entre 12 e 18 horas após o nascimento, quando comparados com grupos que receberam o colostro nas primeiras 12 horas de vida. Isto acontece porque, segundo estes mesmos autores, a redução da eficiência de absorção de Ig após o nascimento ocorre a uma taxa de 0,3% nas primeiras 12 horas, aumentando acentuadamente para 2,5% de redução por hora, por volta de 18 horas pós-parto. Estes resultados sugerem que a eficiência de absorção nas horas iniciais é mais influenciada pela massa de IgG consumida do que pela idade ao primeiro colostro.

De forma semelhante, Hopkins e Quigley (1996) obtiveram resultados para a eficiência de absorção de Ig indicando que a alta concentração de IgG no soro é influenciada pela alta ingestão de IgG colostrado, com padrão semelhante na eficiência de absorção até 12 horas quando comparada com a primeira alimentação. Segundo os mesmos autores, o sucesso da transferência de imunidade passiva, medida através da concentração de IgG, pode ser alcançada quando o bezerro é alimentado em uma ou em duas refeições dentro das primeiras 12 horas pós-nascimento. Porém, quando a colostragem é feita em apenas uma refeição, a capacidade de absorção pode ser reduzida pela saturação dos locais de absorção no intestino. Considerando as três principais classes de Ig, o tempo de fechamento é estabelecido em aproximadamente 26 horas após o nascimento. A idade ao primeiro consumo de colostro tem maior influência sobre o fechamento das células intestinais do que a quantidade de colostro ingerida no período total (STOTT et al., 1979).

Assim, a estratégia de fornecimento do colostro interfere na transferência de imunidade pra o bezerro. Silper et al. (2012) avaliaram bezerros que mamaram colostro sem acompanhamento. Neste trabalho, 88,3% dos bezerros foram identificados com PT acima de 5,5g/dL e IgG média de 10 g/dL, medidas ao terceiro dia de idade pelo método do refratômetro. Neste estudo foram utilizados animais cruzados zebuínos, o que altera o perfil de concentração de IgG presente no colostro para níveis mais altos do que o comumente encontrado no colostro produzido por vacas holandesas. Além disso, fatores como inserção de úbere e peso do bezerro e habilidade materna apresenta influência na autonomia do bezerro para a primeira mamada e portanto afetam a TIP.

A concentração de IgG circulante na corrente sanguínea é um aspecto importantes para a avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros. A concentração igual ou superior a 1000 mg/mL é a recomendação mais usual como meta para o limite mínimo de IgG circulante as 24 horas de idade (NAHMS, 1993). Animais que alcançam este valor são classificados como com sucesso de transferência de imunidade passiva. Para tanto, é sugerido o consumo de 100g (DAVIS; DRACKLEY, 1998) a 120g (OSAKA et al., 2014) de IgG nas primeiras horas após o nascimento. De posse destes valores, o volume de colostro a ser fornecido ao bezerro nas primeiras horas de vida, passa a ser dependente da massa de IgG contida e do peso do bezerro ao nascer. O cálculo da dose de IgG a ser fornecida deve considerar que aproximadamente 6,5% do peso corporal é representado pelo plasma, ou seja, um bezerro de 40 Kg ao nascer tem volume plasmático de aproximadamente 2,6L. Assim, a quantidade de IgG necessária para se alcançar a concentração de 10mg/mL circulante pode ser estimada pela fórmula  $2,6L \text{ de soro} \times 10 \text{ g IgG/L} = 26g$  de IgG. Considerando ainda que a eficiência de absorção seja em média de 25% dentro das primeiras horas após o nascimento, a quantidade de IgG em gramas exigida será obtida da seguinte forma:  $26g \div 0,25 = 104g$  de IgG (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

A influência da colostragem se estende ao longo da vida do animal, interferindo diretamente no status de saúde e desenvolvimento desde os primeiros dias de vida até a fase adulta.

Em estudo realizado por Wittum e Perino (1995), para animais classificados como tendo inadequada concentração de IgG às 24 horas a taxa de morbidade durante o período neonatal foi de 25%, enquanto que de apenas 5% aqueles

classificados com adequada concentração de IgG no mesmo período. Estes autores também identificaram que bezerros classificados com inadequada concentração de IgG às 24 horas estiveram em maior risco de mortalidade no período pré-desaleitamento, bem como para morbidade neonatal e morbidade pré-desaleitamento, quando comparados com bezerros com adequada concentração de IgG às 24h. Estes dados indicam que a concentração de IgG às 24 horas está diretamente associada com um grande risco de problemas de saúde antes e após o desaleitamento e indiretamente com o desempenho.

Em estudo realizado por Furman-Fratczak e Stefaniak (2011), bezerras com concentrações séricas de Ig acima de 10g/L às 30-60 horas de vida apresentaram menores índices de morbidade e gravidade das doenças. Em animais com  $\gamma$ -globulina sérica acima de 15 g/L a incidência de doenças respiratórias foi reduzida e não foram registrados casos de doenças antes do 14º dia de vida. Em longo prazo, as novilhas que apresentaram às 30-60 horas níveis de  $\gamma$ -globulina acima de 10g/L após a transferência passiva, mostraram melhor status de saúde e alcançaram peso corporal mais cedo, antecipando a inseminação.

Segundo a definição comumente aceita para a definição de falha de transferência passiva (FTP) de 1000 mg/dL de IgG, não houve diferença no risco de diarreia, pneumonia ou risco para desenvolver ambas as doenças em animais com falha de transferência passiva comparado com bezerros com adequada transferência de imunidade passiva (VILLARROEL et al., 2013). Feitosa et al. (2001) registraram uma taxa de 100% de óbitos de animais com concentrações séricas de proteína total compreendidos ente 3,4 e 4,5g/dL. Assim, a transferência de imunidade passiva deve estar associada a redução dos quadro de morbidade e óbito, mas não necessariamente a ausência das principais doenças ocorrentes nesta fase.

### **1.1.7 Avaliação da Transferência de Imunidade Passiva**

A determinação da concentração da proteína total é um método indireto utilizado para estimar IgG no soro sanguíneo de bezerros (FEITOSA et al., 2001) em razão da influência da imunoglobulina G sérica de origem exógena sobre a proteína sérica (PAULETTI et al., 2002).

Considerando a composição plasmática com cerca de 91,5% de água, 7,5% de sólidos orgânicos e 1,0% de sólidos inorgânicos, cerca de 7%, da fração de sólidos orgânicos, é representada pelas proteínas plasmáticas albumina, globulinas, fibrinogênio e outros fatores de coagulação (GARCIA-NAVARRO, 2005).

Em bezerros recém-nascidos a fração proteína total do sangue apresenta boa correlação com a Ig colostrar. Isto porque nas primeiras horas de vida o nível de albumina, a fração proteica no soro sanguíneo mais importante antes da colostragem, é pouco variável, logo as diferenças nas concentrações proteicas devem-se quase que exclusivamente à absorção de imunoglobulinas após a ingestão do colostro (FEITOSA et al., 2001). O que sugere a utilização da PT como método indireto para estimar a concentração da IgG sérico em bezerros neonatos (VILLARROEL et al., 2013).

Muito autores estudaram a correlação existente entre a PT e a IgG sérica em bezerros recém-nascidos (Tabela 1.2). Entre os trabalhos encontrados há uma variação da idade dos animais para a determinação das correlações, o que pode influenciar na acurácia dos resultados, considerando que a relação existente entre estes dois parâmetros é variável com a idade em função da atividade de produção endógena de anticorpos com o avançar da idade e o amadurecimento do sistema imunológico.

Tabela 1.2 - Levantamento dos valores de correlação entre proteína total e Ig sérica de bezerros entre o nascimento e 120 dias de idade

<b>Autor</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Idade</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Mowrey (2001)	Biureto	24 horas	0,720
Quigley et al. (2002)	Refratômetro óptico	24 horas	0,770
Quigley et al. (2002)	Refratômetro óptico	24 horas	0,590
Slosárková et al. (2014)	Diferença PT – Alb <sup>1</sup>	1 – 6 dias	0,950
Tyler et al. (1996)	Refratômetro óptico	1 – 8 dias	0,760
Deelen et al. (2014)	Refratômetro óptico	3 – 6 dias	0,720
Colloway et al. (2002)	Refratômetro óptico	< 10 dias	0,587
Colloway et al. (2002)	Refratômetro óptico	< 10 dias	0,596
Tyler et al. (1999)	Refratômetro óptico	< 21 dias	0,850
Villarroel et al. (2013)	Refratômetro digital	1 – 30 dias	0,670
Pauletti et al. (2002)	Biureto	1 – 60 dias	0,788
Teixeira et al. (2012)	Turbidimetria por sulfato de zinco	1 – 120 dias	0,910

<sup>1</sup> PT = Proteína Sérica Total; Alb = Albumina

No trabalho com animais Holandeses e Jersey, Villarroel et al. (2013) encontraram os valores mais altos para as concentrações da PT e IgG ao 2º e 3º dia de idade, período no qual foi garantida a estimativa de alta concentração de PT e IgG. Segundo estes autores, o pico de concentração ocorre entre as primeiras 24 – 48 horas de idade como resultado da absorção sistêmica e circulação dos anticorpos maternos, necessitando portanto de um tempo para aparecer no soro.

As concentrações de imunoglobulinas G presentes no soro sofrem variações em função da atividade metabólica, que nas primeiras semanas de vida são altas para que as concentrações destes anticorpos alcancem uma quantidade fisiológica pré-determinada entre 20-25mg/mL. Em animais com concentrações de IgG séricos iniciais mais altos, a queda dos valores de proteína sérica total acontece de forma mais prolongada como consequência das atividades catabólicas. A estabilidade desta fração é alcançada por volta do 60º dia de idade em animais com adequada transferência de imunidade. Porém animais com baixa concentração inicial de IgG séricas às 24 horas, apresentam ausência da fase catabólica e como consequência



da falha na aquisição de imunidade passiva, a síntese de anticorpos se estabelece desde os primeiros dias de vida (PAULETTI et al., 2002).

Segundo Villarroel et al. (2013), o decréscimo nas concentração de PT pode ser observado de forma mais significativa com aproximadamente 2 semanas de idade. Este é o momento em que o ponto da PT permanece constante em 5,5g/dL, indicando que bezerros até uma semana de idade ainda estão aptos a serem utilizados na avaliação de FPT. Porém, os mesmos autores alertam para a necessidade de ajuste do ponto de corte utilizado para estabelecer inadequada concentração de PT, isto porque há uma diminuição de 0,07g/dL da proteína a cada dia durante a primeira semana de vida, acompanhada pela concentração de IgG, que no mesmo período decresce cerca de 74mg/dL cada dia.

Portanto, o diagnóstico da FTP deve estar associado com a combinação da determinação da Ig colostrar e sérica, o que pode ser usado na garantia do sucesso da transferência de imunidade passiva (FLEENOR; STOTT, 1980), além de ser uma ferramenta de monitoramento sanitário do rebanho.

Além dos elementos do sistema imune, o sangue dos bezerros recém-nascidos compreende ainda uma série de substâncias e componentes bioativos importantes para a avaliação do status de imunidade. Dentre estes componentes, enzimas como a gamaglutamil transferase (GGT) e a fosfatase alcalina tem suas atividades e concentrações alteradas com a primeira refeição após o parto.

Ao nascer, a concentração pré-colostral da GGT é normalmente muito baixo. No entanto, a presença desta enzima passa a ser detectável em algumas horas logo após a ingestão do colostro (ROCHA et al., 2012). Este aumento é ocasionado pela absorção da GGT oriunda do próprio colostro. Há registro da alta correlação entre as concentrações de proteína total com a atividade da GGT e das globulinas, bem como uma alta correlação entre a atividade desta enzima com a concentração sérica de globulinas no período de 24 horas após o nascimento (BRAUN et al., 1978; ROCHA et al., 2012).

No período perinatal, a ingestão do colostro exerce influência na atividade destas enzimas. Isto ocorre em razão da absorção das enzimas colostrais que são absorvidas ou mesmo como consequência da produção endógena (ZANKER; HAMMON; BLUM, 2001). Em função desta influência, Slosártová et al. (2014) sugerem a avaliação da atividade da GGT como um indicador da transferência de imunidade colostrar. Estes autores afirmam que baixas concentrações de PT

associados a baixas concentrações de Ig e de GGT no soro de bezerros indicam substancialmente uma imunidade colostrar eficiente.

Obedecendo ao mesmo princípio do aumento da GGT, a fosfatase alcalina também apresenta aumento nos níveis sérico com a ingestão do colostro (ROCHA et al., 2012). Braun et al. (1978) relataram alta concentração da fosfatase alcalina em bezerros alimentados com colostro. Da mesma forma, Zanker, Hammon e Blum (2001) registraram o aumento inicial da concentração da fosfatase alcalina em bezerros alimentados com o primeiro colostro entre 0 – 2 horas após o nascimento. Nestes trabalhos esses autores afirmam que este aumento foi possivelmente devido a absorção da fosfatase alcalina colostrar, assim como a GGT, apresentando, estas duas enzimas, uma correlação positiva com a absorção de Ig no primeiro dia de vida (BRAUN et al., 1978).

## Referências

ALDRIDGE, B.; GARRY, F.; ADAMS, R. Role of colostrar transfer in neonatal calf management: failure of acquisition of passive immunity. **Compendium on continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Saskatoon, v. 14, p. 265-270, 1992.

ALONSO-SPILSBURY, M.; MOTA-ROJAS, D.; VILLANUEVA-GARCIA, D.; MARTÍNEZ- BURNES, J.; OROZCO, H.; RAMÍREZ-NECOCHEA, R.; MAYAGOITIA, A.L.; TTUJILLO, M.E. Perinatal asphyxia pathophysiology in pig, human: a review. **Animal Reproduction Science**, Netherlands, v. 90, p. 1–30, 2005.

ANDERSEN, K.J.; BRINKS, J.S.; LEFEVER, D.G.; ODDE, K.G. The factors associated with dystocia in cattle. **Veterinary Medicine**, Melbourne, v. 88, p. 764-776, 1993.

ANTONIAZZI, A.Q.; LISTON, M.A.; GABRIEL, A.L.; BARCELLOS, A.R.; CECIM, M. Indução do parto de bovinos aos 270 dias de gestação com a utilização prévia de glicocorticoide de longa ação e a transferência de imunidade passiva. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 31, p. 103-109, 2009.

APGAR, V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. **Current Researches in Anesthesia and Analgesia**, New York, v. 32, p. 260-267, 1953.

AURICH, J.E.; DOBRINSKI, I.; PETERSEN, A.; GRUNERT, E.; RAUSCH, W.D.; CHAN, W W. Influence of labor , neonatal hypoxia on sympathoadrenal activation , methionine enkephalin release in calves. **American Journal of Veterinary Research**, Boston, v. 54, p. 1333-1338, 1993.

BARRINGTON, G.M.; BESSER, T.E.; GAY, C.C.; DAVIS, W.C.; REEVES, J.J.; McFADDEN, T.B. Effect of prolactin on in vitro expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 94-100, 1997.

BARRINGTON, G.M.; BESSER, T.E.; GAY, C.C.; DAVIS, W.C.; REEVES, J.J.; McFADDEN, T.B.; AKERS, R.M. Regulation of the immunoglobulin G1 receptor: effect of prolactin on in vivo expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor. **Journal of Endocrinology**, Melbourne, v. 163, p. 25-31, 1999.

BAUMRUCKER, C.R.; BURKETT, A.M.; MAGLIARO-MACRINA, A.L.; DECHOW, C.D. Colostrogenesis: Mass transfer of immunoglobulin G1 into colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 3031–3038, 2010.

BELLOWS, R.A.; LAMMOGLIA, M.A. Effects of severity of dystocia on cold tolerance, serum concentrations of glucose, cortisol in neonatal beef calves. **Theriogenology**, Fort Collins, v. 53, p. 803-013, 2000.

BENESI, F.J. Síndrome asfíxia neonatal nos bezerros. Importância e avaliação crítica. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, Salvador, v. 16, p. 38-48, 1993.

BLUM, J.W.; HAMMON, H. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, on nutritional, endocrine, metabolic parameters in neonatal calves. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 66, p. 151-159, 2000.

BLUM, J.W.; HADORN, U.; SALLMANN, H.P.; SCHUEP, W. Delaying colostrum intake by one day impairs plasma lipid, essential fatty acid, carotene, retinol, alpha-tocopherol status in neonatal calves. **The Journal Nutrition**, Philadelphia, v. 127, p. 2024–2029, 1997.

BORN, E. **Untersuchungen ueber den Einfluss der Schnittenbindung auf die Vitalitaet neugeborener Kaelber**. 1981. 47 p. Dissertation - Tieraeztliche Hochschule, Hannover, 1981.

BOYD, J.W. Relationships between acid-base balance, serum composition, colostrums absorption in newborn calves. **British Veterinary Journal**, London, v. 145, p. 249-256, 1989.

BRANDON, M.R.; WATSON, D.L.; LASCELLES, A.K. The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, Camden, v. 49, p. 613-623, 1971.

BRAUN, J.P.; RICO, A.Z.; BENARD, P.; THOUVENOT, J.P.; BONNEFIS, M.J. Blood and tissue distribution of gamma glutamyl transferase in calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, p. 77-90, 1978.

BROLIO, M.P.; AMBRÓSIO, C.E.; FRANCIOLLI, A.R.; MORINI, A.C.; GUERRA, R.R.; MIGLINO, M.A. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 34, p. 222-232, 2010.

BUTLER, J.E. Bovine immunoglobulins: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 52, p. 1895–1909, 1969.

CALLOWAY, D.C.; TYLER, J.W.; TESSMAN, R.K.; HOSTETLER, D.; HOLLIE, J. Comparison of refractometers, test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. **Journal Animal Veterinary Medicine Association**, Boston, v. 221, p. 1605–1608, 2002.

CASTAGNETTI, C.; PIRRONE, A.; MARIELLA, J.; MARI, G. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. **Theriogenology**, Fort Collins, v. 73, p. 343-357, 2010.

CHAIRMAN; D.R.; BRUNNER, J.R.; KALAN, E.B.; LARSON, B.L.; MELNYCHYN, P.; SWAISGOOD, E.; WAUGH, D.F. Nomenclature of the proteins of cow's milk: third revision. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 53, p. 1-17, 1970.

CHASE, C.C.L.; HURLEY, D.J.; REBER, A.J. Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. **Veterinary Clinic Nutrition Animal, Food Animal Practice**, New York, v. 24, p. 87-104, 2008.

CORTESE, V.S. Neonatal immunology. **Veterinary Clinic Nutrition Animal, Food Animal Practice**, New York, v. 25, p. 221-227, 2009.

DAVIS, C.L., DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. 339 p.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; MIROLA, R.M.S.; PERRI, S.H.V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 251-255, 2001.

FINSTER, M.; WOOD, M. The Apgar score has survived the test of time. **Anesthesiology**, Schaumburg, v. 102, p. 855-857, 2005.

FLEENOR, W.A.; STOTT, G.H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p. 974-977, 1980.

FRANKLIN, S.T.; NEWMAN, M.C.; NEWMAN, K.E.; MEEK, K.I. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 766-775, 2005.

FURMAN-FRATCZAK, K.; RZASA, A.; STEFANIAK, T. The influence of colostral immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 5536-5543, 2011.

GABAS, D.T.; MATSUBARA, L.M.; OLIVA, V.N.L.S.; RODELHO, L.; ROSSI, C.N.; PERRI, S.H.V. Estado neurológico e cardiorrespiratório de filhotes de cães nascidos de parto normal ou de cesariana sob anestesia inalatória com sevofluorano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 1450-1455, 2006.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de hematologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2005. 206 p.

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

GODDEN, S. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, Boston, v. 24, p. 19-38, 2008.

GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; FERREIRA, P.D.S. **Alimentação de gado de leite**. Belo Horizonte: FEP, MVZ Editora, 2009. 412 p.

GUY, M.A.; MCFADDEN, T.B.; COCKRELL, D.C.; BESSER, T.E. Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 3002-3007, 1994.

HOPKINS, B.A.; QUIGLEY, J.D. Effects of method of colostrum feeding and colostrum supplementation on concentrations of immunoglobulin G in the serum of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 979-983, 1997.

KEHOE, S.I.; JAYARAO, B.M.; HEINRICHSA, J. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4108-4116, 2007.

KLEINSMITH, A. Scientific and medical research related to bovine colostrum: its relationship and use in the treatment of disease in humans selected published abstracts. **True bovine colostrum for the practitioner**. 2010. Disponível em: <[http://www. healthyhabitsusa.com/pdfs/colostrum.pdf](http://www.healthyhabitsusa.com/pdfs/colostrum.pdf)>. Acesso em: 25 nov. 2015.

LARSON, B.K.; HEARY, H.K.; DEVERY, J.E. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p. 377-380, 1980.

LAVOR, M.S.L.; POMPERMAYER, L.G.; NISHIYAMA, S.M.; DURTE, T.S.; FILGUEIRAS, R.R.; ODHENTAL, M.E. Efeitos fetais e maternos do propofol, etomidato, tiopental e anestesia epidural, em cesariana eletiva de cadelas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1833-1839, 2004.

LIU, G.L.; WANG, J.Q.; BU, D.P.; CHENG, J.B.; ZHANG, C.G.; WEI, H.Y.; ZHOU, L.Y.; LIU, K.L.; DONG, X.L. Specific immune milk production of cows implanted with antigen-release devices. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 100-108, 2008.

LOMBARD, J.E.; GARRY, F.B.; TOMLINSON, S.M.; GARBER, L.P. Impacts of dystocia on health, survival of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 1751-1760, 2007.

LOTH, E.D.; VITTI, C.R.; NUNES, J.I.S. A diferença das notas do teste Apgar entre crianças nascidas de parto normal e parto cesariana. **Arquivo de Ciências e Saúde**, Umuarama, v. 5, p. 211-213, 2001.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; PRADO, G.V.B.; PAULETTI, R.B.P. Colostral immunoglobulins absorption in Canchim and nelore calves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Belo Horizonte v. 33, p. 1544-1547, 2004.

MELLOR, D.J.; FLINT, D.J.; VERNON, R.G.; FORSYTH, I.A. Relationships between plasma hormone concentrations, under development in the production of early mammary secretions in twing-bearing ewes on different planes of nutrition. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, London, v. 72, p. 345-356, 1987.

MEYER, C.L.; BERGER, J.; KOEHLER, K.J.; THOMPSON, J.R.; SATTLER, C.G. Phenotypic trends in incidence of stillbirth for Holsteins in the United States. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 515-523, 2001.

MOWREY, C.M. **Influence of feeding pooled colostrum or colostrum replacement on IgG levels and evaluation of animal plasma as a milk replacer protein source**. 2001. 105 p. Thesis (M.S.) - Virginia Tech, Blacksburg, 2001.

NATIONAL ANIMAL HEALTH MONITORING SYSTEM. **National dairy heifer evaluation: dairy herd management practices focusing on pre weaned heifers**. Fort Collins: USDA, Animal and Plant Health Inspection Service Veterinary Service, 1993. 37 p.

OSAKA, Y.M.; TERADA, F.J. Effect of the mass of immunoglobulin (Ig) G intake and age at first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, p. 6608–6612, 2014.

PAES, P.R.O.; GONÇANVES, R.C.; BARIONI, G.; LEME, F.O.P.; MELO, M.M.; CRUZ, M.L. O leucograma como indicador de estresse no desmame e no transporte rodoviário de bovinos da raça Nelore. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 305-312, 2012.

PAKKANEN, R.; AALTO, J. Review paper growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. **International Dairy Journal**, Kidlington, v. 7, p. 285-291, 1997.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BESSI, R. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça Holandesa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 89-94, 2002.

QUIGLEY, J.D.; KOST, C.J.; WOLFE, T.M. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 1243–1248, 2002.

REECE, W.O. **Dukes**: fisiologia dos animais domésticos. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 926 p.

ROA, I.; SMOK, S.C.; PRIETO, G.R.Ê. Placenta; anatomia e histologia comparada. **International Journal of Morphology**, Temuco, v. 30, n. 4, p. 1490-1496, 2012.

ROCHA, T.G.; NOCITI, R.P.; SAMPAIO, A.A.M.; FAGLIARI, J.J. Passive immunity transfer and sérum constituents of crossbred calves. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, p. 515-522, 2012.

ROY, J.H.B. **The calf**: management of health. 5<sup>th</sup> ed. Boston: Butterworth, 1990. 258 p.

SAMUELSON, D.A. **Tratado de histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 544 p.

SÁNCHEZ-MACÍAS, D.; MORENO-INDIAS, I.; CASTRO, N.; MORALES-DELANUEZ, A.; ARGÜELLO, A. From goat colostrum to milk: physical, chemical, and immune evolution from partum to 90 days postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, p. 10-16, 2013.

SCHULZ, J.; PLISCHKE, B.; BRAUN, H. Sucking, drinking behavior as criteria of vitality in newborn calves. **Tierärztliche Praxis**, Stuttgart, v. 25, p. 116–122, 1997.

SILPER, S.G.; COELHO, M.M.F.; MADEIRA, J.R.M.; RUAS, A.M.Q.; LANA, R.B.; REIS, H.M.; SATURNINO. Avaliação da qualidade do colostro e transferência de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, p. 281-285, 2012.

SILVA, L.C.G.; LÚCIO, C.F.; VEIGA, G.A.L.; RODRIGUES, J.A.; VANNUCCHI, C.I. Avaliação clínica neonatal pelo score Apgar e temperatura corpórea em diferentes condições obstétricas na espécie canina. **Revista Portuguesa Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 103, p. 165-170, 2008.

SLOSARKOVA, S.; FLEISCHER, P.; PENKAVA, O.; SKRIVANEK, M. The assessment of colostrum immunity in dairy calves based on serum biochemical indicators and their relationship. **Acta Vet**, Brno, v. 83, p. 151–156, 2014.

STEINHARDT, M.; THIELSCHER, H.-H.; VON HORN, R.; VON HORN, T.; ERMGASSEN, K.; LADEWIG, J. Anpassungsreaktionen von Milch- rindka"lbern in den ersten Lebenstagen. **Tierärztliche Praxis**, Stuttgart, v. 23, p. 243–249, 1995.

STELWAGEN, K.; CARPENTER, E.; HAIGH, B.; HODGKINSON, A; WHEELER, T. T. Immune components of bovine colostrum and milk. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 3-9, 2009.

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

TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 8. ed. São Paulo: Roca, 2008. 532 p.

TEIXEIRA, W.T.; FONTEQUE, G.V.; RAMOS, A.F.; MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A.; MARTINS, V.M.V.; SAITO, M.E.; FONTEQUE, J.H. Transfer of passive immunity and serum proteinogram in the first six months of life of Criollo Lageano and Black and White Holstein calves. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 10, p. 980-986, 2012.

TYLER, J.W.; PARISH, S.M.; BESSER, T.E.; VAN METRE, D.C.; BARRINGTON, G.M.; MIDDLETON, J.R. Detection of low serum immunoglobulin concentrations in clinically. Ill Calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Melbourne, v. 13, p. 40-43, 1999.

TYLER, J.W.; HANCOCK, D.D.; PARISH, S.M.; REA, D.E.; BESSER, T.E.; SANDERS, S.G.; WILSON, L.K. Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Melbourne, v. 10, p. 304-307, 1996.

VASSALO, F.G.; PETERNELLI SILVA, L.; LOURENÇO, M.L.G.; CHIACCHIO S.B. Escore de Apgar: história e importância na medicina veterinária Apgar score: history, importance in Veterinary Medicine. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 38, p. 54-59, 2014.

VASSEUR, E.; RUSHEN, J.; DE PASSILLÉ, A. Does a calf's motivation to ingest colostrum depend on time since birth, calf vigor, or provision of health. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 3915–3921, 2009.

VERMOREL, M.; VERNET, J.; DARDILLAT, C.; SAIDO, J.; DEMIGNE, C. Energy metabolism, thermo-regulation in the newborn calf; variations during the first day of life, differences between breeds. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 69, p. 103–111, 1989.

VILLARROEL, A.; MILLER, T.B.; JOHNSON, E.D.; NOYES, K.R.; WARD, J.K. Factors affecting serum total protein and immunoglobulin G concentration in replacement dairy calves. **Advances in Dairy Research**, Los Angeles, v. 1, p. 106, 2013.

WHITE, D.G. Colostral supplementation in ruminants: the compendium of continuing. **Education Veterinary Practice**, Boston, v. 15, p. 335-342, 1993.

WILSON, G.D.; HUNTER, J.T.; DERRICK, G.H.; AITKEN, W.M.; KRONFELD, D.S. Fetal, maternal plasma electrolytes, blood gases, pH in dairy cows during late gestation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, p. 1110-1116, 1976.



ZANKER, I.A.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Activities of  $\gamma$ -glutamyl transferase, alkaline phosphatase, aspartate-aminotransferase in colostrum, milk, blood plasma of calves fed first colostrum at 0 $\pm$ 2, 6 $\pm$ 7, 12 $\pm$ 13, 24 $\pm$ 25 h after birth. **Journal of Veterinary Medicine Association, Physiology and Pathology Clinical Medicine**, Berlin, v. 48, p. 179-185, 2001.

## 2 VIGOR E VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE METABÓLITOS SANGUÍNEOS EM BEZERROS NEONATOS EM FUNÇÃO DO CONSUMO DE COLOSTRO

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi identificar os padrões de vigor e parâmetros sanguíneos de bezerros recém-nascidos. Foram utilizados 46 bezerros neonatos de ambos os sexos, nascidos entre setembro de 2013 e julho de 2014. Os animais foram separados das mães após o nascimento e receberam seis litros de colostro de boa qualidade nas primeiras seis horas de vida, em seguida foram pesado e alocados em abrigos individuais no bezerreiro experimental das respectivas propriedades, tendo livre acesso a água e ração. As avaliações de vigor dos animais foram realizadas aproximadamente com 15 minutos após o nascimento utilizando-se escala APGAR, modificada pela Universidade de Guelph. A colheita do sangue para análise de metabólitos seguiu os horários de 0h (antes da ingestão), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h contadas a partir da ingestão do colostro. Os demais parâmetros sanguíneos foram determinados por kit enzimático específico para cada parâmetro em Sistema Automático para Bioquímica. Todos os animais utilizados neste trabalho foram oriundos de partos eutócicos e apresentaram, de acordo com a escala APGAR, vigor satisfatório. A concentração plasmática de glicose aumentou na primeira hora após o consumo de colostro, porém apesar de sempre crescente não apresentou diferença estatística de concentração até as 12h, condição glicêmica coerente com a condição de vigor. A concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) apresentou variação entre o nascimento e as 48 horas após o consumo de colostro, com comportamento decrescente durante o período de avaliação. A proteína total apresentou baixa concentração sérica ao nascimento, com aumento na concentração após a ingestão do colostro, enquanto a albumina apresentou comportamento contrário, com queda acentuada nas primeiras horas de vida, com valor mínimo entre 4 e 12 horas após o consumo de colostro. A concentração de fosfatase alcalina também apresentou variação crescente até às 12 horas após o consumo da primeira refeição e diminuiu nos horários seguintes. Os parâmetros avaliados sugerem que os animais apresentam boa condição de vigor, condizente com partos eutócicos. As variações dos metabólitos sanguíneos foram afetadas pelo consumo de colostro, aumentando a disponibilidade de energia para os animais, com aumentos na concentração de glicose e redução de AGNE. Da mesma forma, o consumo de colostro aumentou a concentração de frações proteicas comumente utilizadas como indicativos da transferência de imunidade passiva.

Palavras-chave: Vitalidade; APGAR; Sangue; Fosfatase

### Abstract

The objective of this trial was to evaluate the vigor and the variation in blood metabolites in newborn dairy calves as a function of colostrum intake. The first trial evaluated 46 newborn calves, males and females, born from September 2014 to July 2014. Calves were separated from their mothers just after calving and received 6 L of high quality colostrum during the first 6h of life. Calves were weighted and housed in individual shelters, with free access to water and starter concentrate. Animals' vigor evaluations were carried out between 15 and 30 minutes after birth using the APGAR scale modified by the University of Guelph. The blood sample collection for metabolites

analysis were done at 0h (before intake), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, and 48h after colostrum intake. Blood parameters were analyzed using specific enzymatic kits and an automatic biochemical system. All animals were born from eutocic births and presented, according to the APGAR scale, satisfactory vigor. Plasma glucose concentration increased during the first hour after colostrum intake, however even though concentrations were always increasing, there were no statistical differences up to 12h after colostrum intake, condition that corroborates animals vigor. Concentration of non-esterified fatty acids (NEFA) presented variation between birth and 48h after colostrum intake, decreasing during the evaluation period. Total protein were low just after birth and increased with the colostrum intake. On the other hand, albumin presented a dramatic reduction during the first hours of life, with minimum values between 4 and 12 hours after colostrum intake. Alkaline phosphatase also presented increased concentration up to 12 hours after colostrum intake and was reduced thereafter. Evaluated parameters suggest that animals were in good vigor condition, consistent with eutocic births. Blood metabolites concentrations were affected by colostrum intake, increasing energy availability for the newborns, with increasing concentration of glucose and decreasing of NEFA. Likewise, the colostrum intake increased concentration of protein fractions commonly used as indicative of passive transfer of immunity.

Keywords: Vitality; APGAR; Blood; Glucose; Alkaline phosphatase

## 2.1 Introdução

O sistema de criação de novilhas para reposição apresenta particularidades relacionadas a condição de vulnerabilidade e desenvolvimento destes animais nos primeiros dias de vida.

Destacando o evento do nascimento, os aspectos relacionados com o momento do parto e a condição física da bezerra ao nascer, como possíveis dificuldades apresentadas na evolução do trabalho de parto, incompatibilidade de tamanhos entre a vaca e o bezerro, apresentação anômala do feto, intervenções no parto, como tração do bezerro do útero materno, habilidade e julgamento bem como o tempo para a intervenção, podem interferir além da sobrevivência do neonato, no desenvolvimento e no estabelecimento da saúde do animal ao longo da vida.

Neste momento, a avaliação desta condição é uma importante ferramenta de auxílio no acompanhamento individual e na tomada de decisão. Pois, nos casos mais delicados, em que o neonato apresenta uma condição neonatal que ameasse o seu perfeito desenvolvimento ou mesmo a sua sobrevivência, o reconhecimento de sinais imediatos são necessários para que se proceda da melhor forma, com vista a preservação da vida do recém-nascido.

Esta avaliação procede da tomada de parâmetros relacionados ao status de vigor do animal imediatamente após o nascimento. Procedimento adaptado da medicina neonatal humana, a escala Apgar elenca sinais objetivos que podem ser avaliados no recém-nascido, tais como o esforço respiratório, irritabilidade reflexa, tônus muscular, frequência cardíaca e coloração das mucosas. De execução simples, esta escala oferece um score para cada parâmetro com informações básicas que possibilita o reconhecimento de possíveis complicações fisiológicas ocasionadas por dificuldades no parto, principalmente no caso de partos distócicos.

Considerando a importância de um padrão de comparação para a correta intervenção no momento do nascimento, o objetivo deste trabalho foi identificar os padrões de vigor e parâmetros sanguíneos de bezerros recém-nascidos.

## **2.2 Material e Métodos**

O experimento foi realizado com um total de 46 bezerros neonatos de ambos os sexos, nascidos entre os meses de setembro de 2013 e julho de 2014, oriundos do rebanho do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' – USP/ESALQ, Piracicaba - SP (n=19, Holandês x Gir), da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional Centro Leste, Ribeirão Preto-SP (n=11, Jersey x Gir), Fazenda Colorado, Araras-SP (n= 4, Holândês) e Fazenda 2N, Campo Belo – MG (n=12, Holandês x Gir).

Após o nascimento os bezerros foram separados das mães, pesados em balança mecânica (ICS-300, Coimma LTDA., Dracena, SP, Brasil) e alocados em abrigos individuais no bezerreiro experimental das respectivas propriedades, com livre acesso a água e ração. Os animais tiveram o umbigo curado com iodo a 7% ao nascer e depois pelo menos duas vezes ao dia, até completa desidratação e queda do cordão.

Foram fornecidos seis litros de colostro de boa qualidade (acima de 50 mg de Ig/dL), em duas refeições nas primeiras seis horas de vida dos animais. Nos casos de recusa a ingestão do colostro, o mesmo foi fornecido com auxílio de sonda esofágica, como forma de garantir a colostragem em tempo e quantidade adequada. Após 12hs de nascidos, os animais foram alimentados com quatro litros de colostro de baixa qualidade (abaixo de 30mg de Ig/dL) também fornecidos em duas refeições dentro da rotina de manejo do bezerreiro.

Logo após o nascimento, os animais foram separados de suas mães, evitando-se assim consumo não controlado de colostro. As avaliações referentes ao vigor dos animais foram realizadas entre 15 e 30 minutos após o nascimento com o auxílio da escala APGAR (Anexo) modificada pela Universidade de Guelph (MURRAY, 2014).

Logo após o parto foram colhidas amostras de sangue materno da artéria coccígea em tubo vacuolizado sem anticoagulante (Z serum Sep. Clot Activador. VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil.) e tubo vacuolizado contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil), para as análises de proteína total, albumina e glicose e fosfatase alcalina, respectivamente.

As colheitas de sangue dos bezerros seguiram os horários de 0h (antes da ingestão do colostro), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h contadas a partir da ingestão do colostro. As amostras foram colhidas através da punção da veia jugular em tubo vacuolizado sem anticoagulante e tubo vacuolizado contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 2000 x g por 20 minutos a temperatura de 4<sup>o</sup>, para obtenção de soro ou plasma, que foram armazenados em microcubos plásticos e acondicionadas em freezer para futuras análises.

### **2.2.1 Metodologia analítica**

A determinação da concentração de proteína sérica foi realizada em todos os horários de coleta. Foi utilizada uma alíquota de soro gotejada sobre a lente do refratômetro manual para proteína (REF301, 0~12g/dL, Kiltler), com calibragem ajustada com água destilada segundo as normas do fabricante.

A concentração de proteína total também foi determinada a partir do kit enzimático PROTEINAS TOTAIS – Ref.: 99-250 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil), por meio de espectrofotometria de ponto final, com filtro de absorvância de 540nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.). O método utiliza 400 µL de reagente biureto pipetado em 8 mL de amostra ou solução padrão (4 g/dL), incubadas a 37<sup>o</sup> por 10 minutos. Após a incubação, as reações das amostras com reagente formaram um composto de cor púrpura, com absorvância proporcional a concentração de proteínas da amostra.

As concentrações de albumina foram determinadas a partir do kit enzimático ALBUMINA K (LABTEST Diagnóstica S. A. Lagoa Santa, MG, Brasil), por meio de espectrofotometria de ponto final, com filtro de absorvância de 630nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.).

A análise de fosfates alcalina foi realizada através do Kit Fosfatase Alcalina Liquiform (LABTEST Diagnóstica S. A.) utiliz,o-se filtro de 405 nm com leitura feita em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.).

As concentrações de glicose foram determinadas a partir de kit enzimático GLICOSE HK LIQUIFORM – Ref.: 85 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil.) por meio de espectrofotometria de ponto final, com filtro de absorvância de 505 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.). O método utiliza 4 µL de amostra pipetada em cubetas de reação, acrescidas de 400 µL de reagente, fornecido pelo kit. Após o período de incubação de 10 minutos foi realizada a leitura de absorvância para a determinação dos valores de glicose em mg/dL.

A determinação das concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma foram realizadas através do kit enzimático NEFA – Ref. FA115 (RANDOX Laboratories – Life Sciences Ltd. Crumlin, UK), através de leitura em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil), utilizando-se filtro de absorvância de 540 nm. A curva padrão foi obtida por meio da diluição em água do padrão interno (1mmol/L), com as concentrações de 0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mmol/L. As amostras foram pipetadas (10µL) em cubetas de reação seguidas de 200µL de reagente enzimático A. em seguida, as cubetas foram incubadas em estufa a 37° por 5 minutos. Após este período, 400 µL de reagente enzimático B foram pipetados e incubados por mais 5 minutos a 37°, sendo a leitura das amostras realizadas 3 minutos após a retirada da estufa.

### **2.2.2 Análise dos dados**

Os dados resultantes da escala de vigor foram analisados observando-se a frequência de cada parâmetro a cada parto.

Os parâmetros sanguíneos foram analisados com o pacote STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Antes das análises propriamente ditas,

os dados foram analisados em relação à presença de informações discrepantes (“outliers”) e normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk). Quando a premissa de normalidade não foi atendida, a transformação logarítmica ou pela raiz quadrada foi necessária.

Os dados foram analisados de acordo com o Proc Mixed para modelos mistos, tendo os Tempos de Coleta (0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 e 48 horas) como medidas repetidas. Para as análises, dentre as 15 diferentes estruturas de covariância testadas, a que melhor se ajustou ao modelo estatístico foi escolhida baseado no menor valor do critério de informação Akaike corrigido (AICC) (WANG; GOONEWARDENE, 2004). O modelo incluiu efeitos fixos de Sexo (machos e fêmeas). Adicionalmente, as comparações de médias entre os Tempos foram realizadas através do teste de Tukey ajustado. Para todos os teste realizados foi adotado o nível de significância de 5%.

### **2.3 Resultados e Discussão**

No presente estudo não foi possível identificar diferenças ao parto entre machos e fêmeas em relação ao tipo de nascimento, considerando que os animais nasceram de partos eutócicos e não houve diferença de peso ao nascer ( $P > 0,05$ ). Os resultados apresentados por Lombard (2007) relacionam o nível de distocia no parto ao sexo do bezerro, uma vez que os bezerros machos seriam mais propensos a apresentarem dificuldades ao nascer em relação as fêmeas. Este mesmo autor reportou que 67% dos partos de fêmeas ocorreram sem auxílio, com aproximadamente 60% de partos eutócicos para os bezerros machos. No entanto, segundo a escala de classificação de dificuldade ao parto, os machos apresentaram também uma grande proporção de indivíduos com distocia média ou severa. Esta condição se repetiu no caso do registro de óbitos, em que mais uma vez as fêmeas apareceram com o menor número (6,3%) de casos comparadas aos machos, que apresentaram cerca de 10% de mortes após o parto. Estas taxas diferenciadas entre os sexos, segundo Murray (2014) seria justificada pelo maior peso médio ao nascer dos animais do sexo masculino, que em média apresentam cerca de 4,8 Kg a mais que as fêmeas. Em contrapartida, Johanson e Berger (2003), relataram que o sexo do animal perde importância relativa quando a variável peso ao nascimento é incluída no modelo logístico, sendo portanto esta última, mais importante para prever o nível de dificuldade ao nascimento.

Assim como para a diferenciação do tipo de parto entre sexo, também não foi possível observar a influência do tipo de parto sobre as outras variáveis propostas pela escala Apgar. Um destes fatores foi a temperatura retal, a qual, segundo Rodrigues (2008) e Murray (2014), não apresenta diferenças entre animais nascidos de parto eutócicos ou distócicos. Esta afirmação discorda do que sugeriu Mee (2008), que mostrou que os partos com dificuldade elevada acarretariam em animais com temperaturas mais baixas, o que seria consequência de acidose e hipotiroxinemia. Em contrapartida, os neonatos bovinos provenientes de partos eutócicos apresentariam maior capacidade de termorregulação, pois possuiriam reflexo necessário para manter o tremor preservado. Logo, bezerros com maior vigor possuem maior capacidade de manter o balanço térmico (CARSTENS, 1994). Os animais envolvidos neste estudo apresentaram médias de 38,6 °C ao nascer e 38,14 °C na primeira hora de idade (Figura 2.1), com queda de aproximadamente 0,5 °C entre os respectivos horários. Estes valores estão abaixo da temperatura mínima considerada por Mee (2008) como sendo normal para estes horários (entre 39 e 40°C), valores que podem apresentar diminuição em três ou quatro horas após o nascimento, até alcançarem a normalidade. Os dados mostram que os animais, mesmo provenientes de partos eutócicos, tiveram dificuldade para controlar a temperatura, que começou a se estabilizar a partir das 12h do consumo de colostro (Figura 2.1).

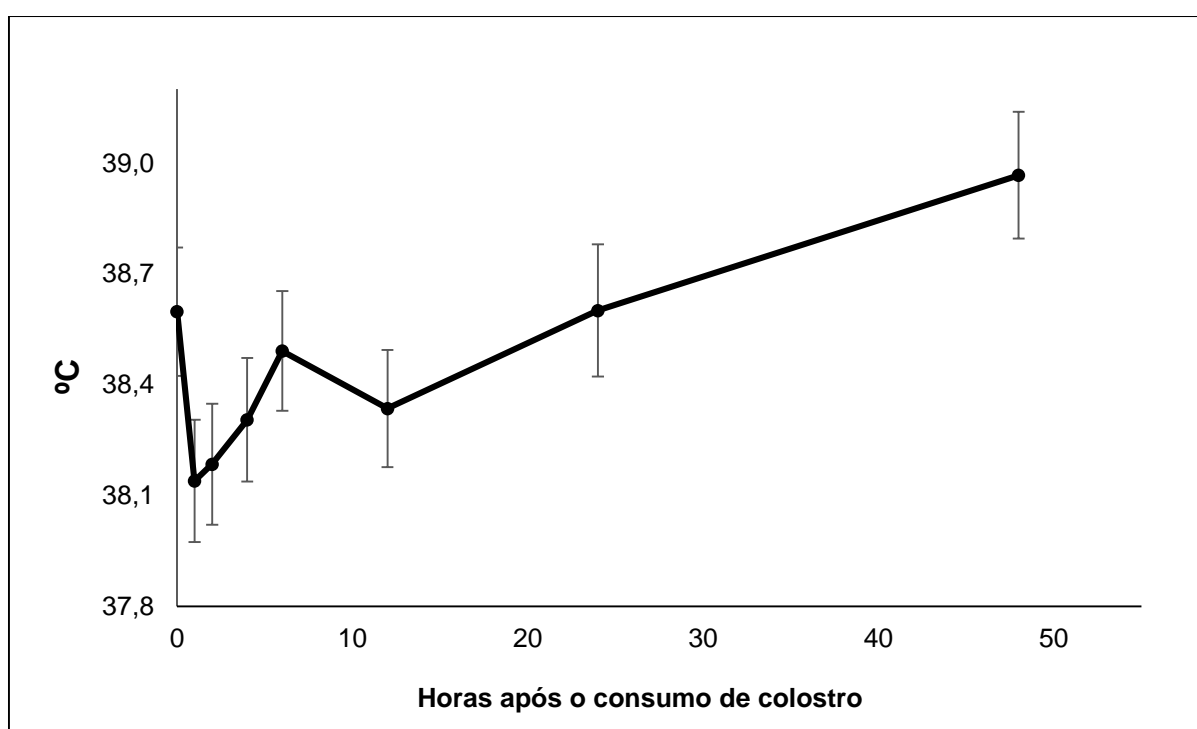




Figura 2.1 - Temperatura retal de bezerros recém-nascidos antes e após o consumo de colostro

Com o decorrer do tempo após o consumo de colostro, a média de temperatura retal dos animais variou entre 38 e 39°C. Comparando estes valores com os dados obtidos por Ravary-Plumioën (2009) (39,6°C aos 5 min de vida, 39,4°C uma hora, 39°C 6h, 38,8°C 12h e 39,1°C 24h pós-parto) é possível constatar que as temperaturas apresentadas pelos animais, apesar de estarem em média 0,5°C abaixo dos padrões para a espécie nesta fase, se mostram sempre muito próximas aos valores de referência para os mesmo horários. Logo, considerando este parâmetro para avaliar a adaptação do animal ao ambiente (BACCARI JÚNIOR, 1990) e o status de vigor ao nascer, a diferença de temperatura não interferiu na adaptação fisiológica dos animais. Isto pode ser confirmado pela avaliação da frequência respiratória (Figura 2.2), que indicou boa condição de nascimento, com 46% dos bezerros com classificação normal. Segundo Ravary-Plumioën (2009), um bezerro recém-nascido saudável começa a respirar dentro dos 30 segundos após o parto. O desenvolvimento deste reflexo em bezerros nascidos de partos eutócicos tende a ser irregular no começo e se estabiliza lentamente até alcançar a normalidade. Considerando que no presente estudo a avaliação dos parâmetros foi executada entre 15 e 30 minutos após o nascimento, provavelmente as medições foram feitas no período em que a taxa respiratória já havia alcançado o equilíbrio.

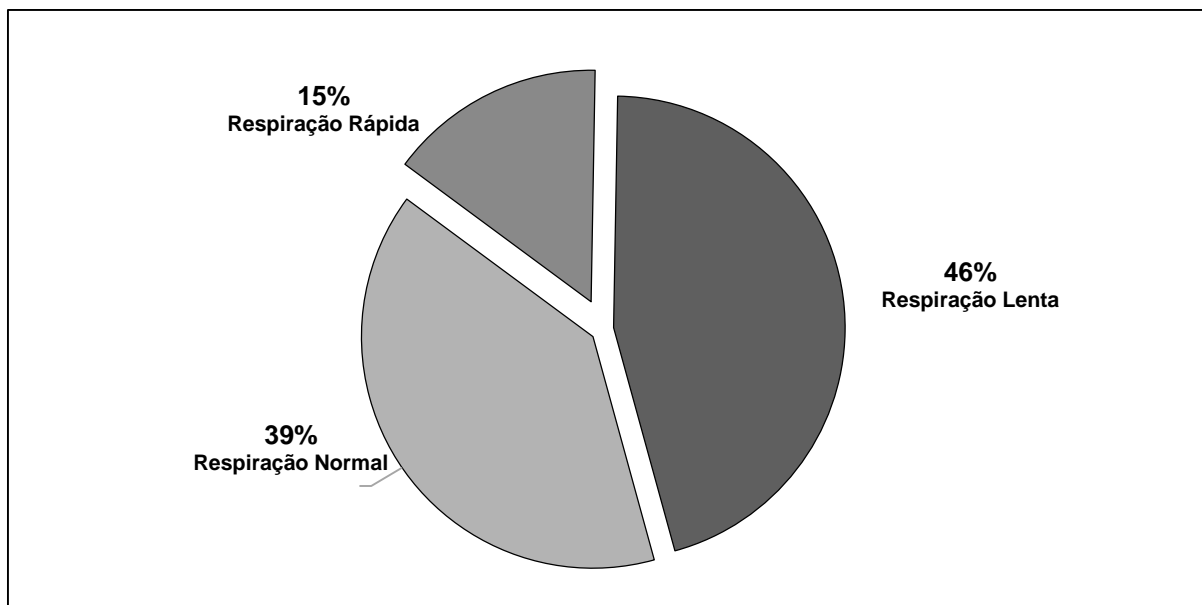


Figura 2.2 - Porcentagem de bezerros quanto a frequência respiratória nos primeiros 30 minutos de vida. RESPIRAÇÃO LENTA: ~<24 respirações por minuto, RESPIRAÇÃO NORMAL: ~24-36 respirações por minuto; RESPIRAÇÃO RÁPIDA: ~>36 respirações por minuto

Considerando ainda a frequência cardíaca como parâmetro da avaliação da condição de vigor dos bezerros recém-nascidos, esta variável apresentou média de 155 batidas por minuto, alcançando classificação alta (acima de 100 batimentos por minuto) para todos os animais. A unanimidade da classificação para este parâmetro, se analisado independentemente, não permite concluir que os animais tenham nascido em uma subcondição de vigor, pois os dados coincidem com os relatos publicados por Gasparelli et al. (2009) e Feitosa et al. (2012). Estes autores, avaliando a vitalidade de bezerros de acordo com o tipo de parto, relataram que em ambas as condições de nascimento, os animais apresentaram frequência cardíaca acima de 140 batimentos por minuto. Esta alta taxa do ritmo cardíaco ocorre como resposta ao aumento de neurotransmissores, como catecolaminas, provocado pelo estresse do parto. No entanto, este comportamento tende à um subsequente decréscimo até às 24 horas de idade, quando alcança o equilíbrio (BOVINO, 2011). Contudo, em função da metodologia de aplicação da escala Apgar, a qual indica apenas um horário de aferição dos parâmetros, no presente estudo não foi possível constatar essa diminuição.

Outro parâmetro proposto pela escala que pode auxiliar na avaliação do vigor dos animais ao nascimento é a coloração da mucosa (Figura 2.3). Com prevalência dos padrões rosa (40%) e rosa claro (36%), a coloração de mucosa observada neste

trabalho indica uma boa condição de vigor dos bezerros ao nascer. Estes dados corroboram com os registros do estudo conduzido por Gasparelli et al. (2009) com bezerros da raça Nelore, no qual uma alta porcentagem (75%) dos bezerros apresentou mucosa normocorada (rósea-clara). Estes mesmos autores, no entanto, relataram que os animais que apresentaram coloração diferente da normalidade, transcorridas as 24 horas de vida, passaram a apresentar mucosas com o padrão de coloração normal.

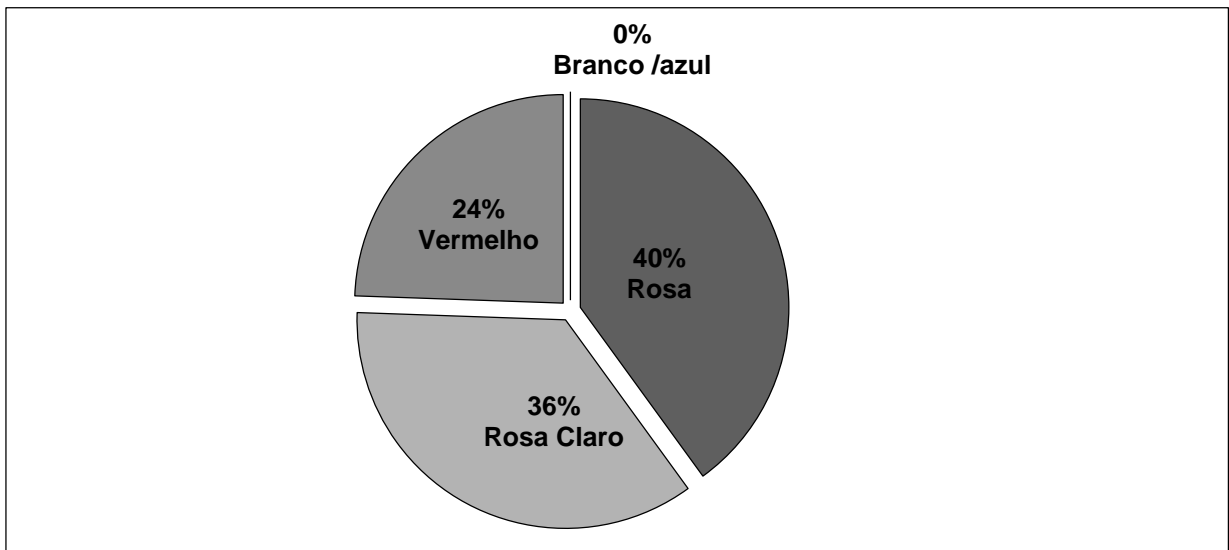


Figura 2.3 - Porcentagem de bezerros quanto a coloração da mucosa nos primeiros 30 minutos de vida

A avaliação do vigor dos recém nascidos através da escala Apgar modificada (MURRAY et al., 2008), engloba ainda o reflexo para fechar os olhos e os reflexos de língua e cabeça. No presente estudo, 98% (Figura 2.4 - A) dos animais piscaram e fecharam ativamente os olhos quando foi testado o reflexo do olho logo após o nascimento. Estes resultados sugerem que os animais não passaram por período de hipóxia durante nascimento, o que já era esperado, dado que todos os animais nasceram de partos eutócicos. Observou-se que 96% dos recém-nascidos (Figura 2.4 – B) retiraram vigorosamente a língua mediante ao estímulo, independentemente do sexo do animal. O mesmo aconteceu quando foi testado o balançar da cabeça em resposta a um estímulo na cavidade nasal, onde 85% dos animais balançaram a cabeça vigorosamente. A consistência dos resultados para estes parâmetros mostra que os animais apresentaram boa preservação dos reflexos ao nascer, o que aumenta a pontuação na escala de vigor para a população amostrada. Animais provenientes

de partos distócicos podem sofrer hipóxia e, por conseguinte, ter sua atividade física reduzida, observando-se a ocorrência de animais letárgicos, com diminuição de reflexos e baixa capacidade para se levantar e se alimentar (ALDRIDGE et al., 1992; BENESI, 1993; DWYER, 2003).

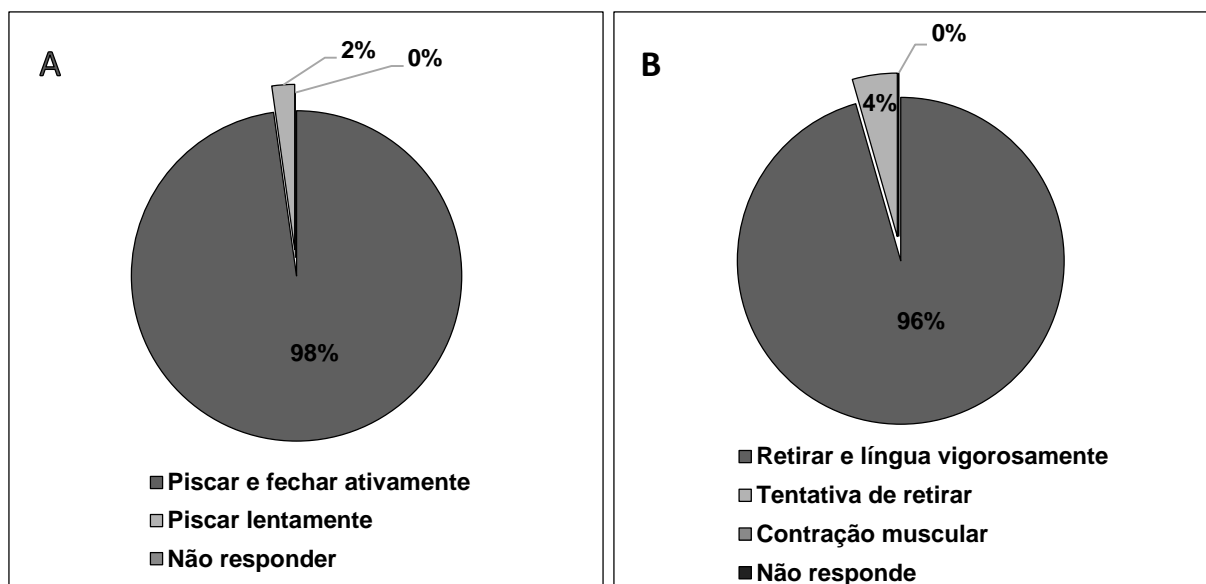


Figura 2.4 - Porcentagem de bezerros quanto ao reflexo do olho em resposta ao tocar o globo ocular (A) e quanto a resposta ao beliscar a língua nos primeiros 30 minutos de vida (B)

A boa condição de nascimento também foi observada quanto a apresentação e distribuição de manchas de mecônio no corpo dos animais. No presente estudo pôde-se constatar que 87% dos bezerros não apresentaram manchas de mecônio, sendo classificados com condição normal, e apenas 13% apresentaram distribuição de manchas considerada como leve, o que ocorre quando o animal apresenta a região em volta do anus e da inserção da calda com certa quantidade de mecônio (Figura 2.5).

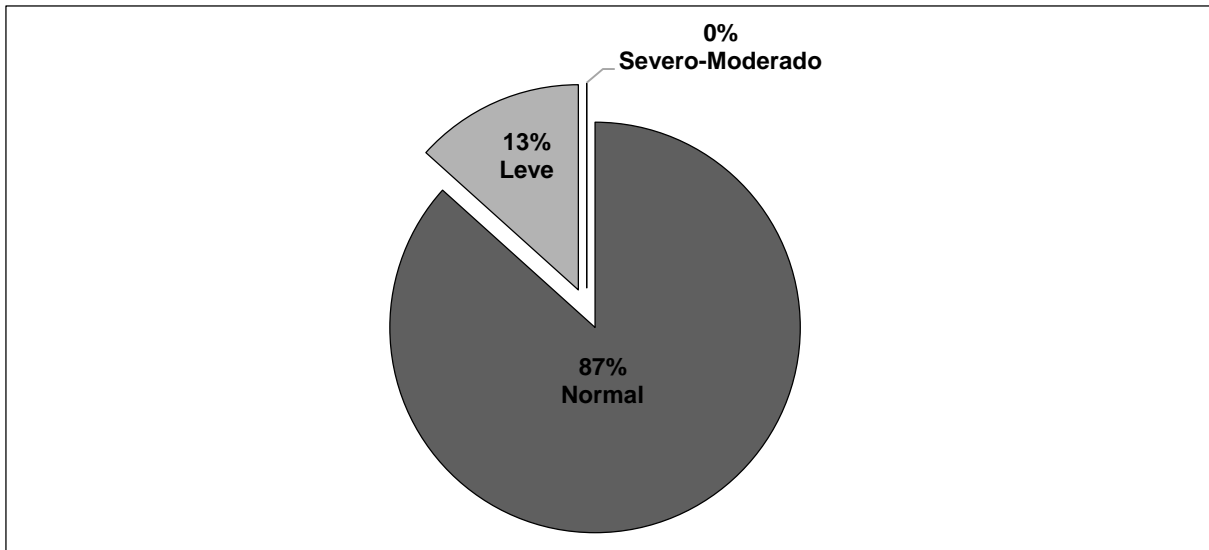


Figura 2.5 - Porcentagem de bezerros quanto a classificação de mancha de mecônio no corpo nos primeiros 30 minutos de vida

Este é um parâmetro importante que está associado ao grau de dificuldade que o animal apresentou durante o nascimento. No estudo realizado por Murray et al. (2008), foi relatada a presença de mecônio no pelo e nas vias respiratórias da maioria dos natimortos, quadro que caracteriza asfixia durante o parto (WIGGLESWORTH, 1984). Esta condição ao nascer ocorre pelo efeito da diminuição na concentração de oxigênio circulante no sangue ou nos tecidos do feto, resultando no peristaltismo intestinal e relaxamento do esfíncter anal com a consequente defecação de mecônio no líquido amniótico (STANTO; CARROLL, 1974). A partir destes acontecimentos, a situação pode evoluir para a anoxia severa e inalação do fluído amniótico com mecônio. Animais que sofrem este tipo de processo morrem ao nascimento ou desenvolvem a síndrome de aspiração de mecônio (DAVIS et al., 1985), tendendo a serem mais fracos e mais susceptíveis à morte perinatal (RADOSTITS et al., 2003). Portanto, considerado este aspecto, os animais avaliados neste experimento apresentaram condição que indica a ausência de asfixia.

Considerando os primeiros movimentos do recém-nascido, no presente estudo, 73% dos animais avaliados levaram entre 0 e 30 minutos sem se levantar e caminhar, sendo que o restante demorou entre 30 minutos a uma hora e meia para ficar de pé (Figura 2. 6). Estes resultados também atestam uma boa condição de vigor ao nascer, o que já era esperado por serem todos os animais provenientes de partos eutócicos.

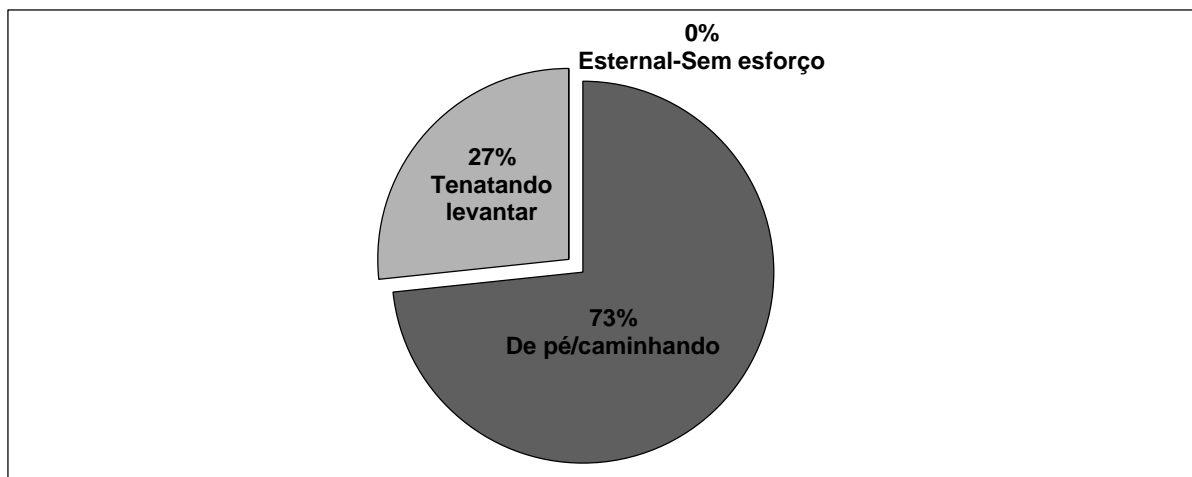


Figura 2.6 - Porcentagem de bezerros quanto aos movimentos realizados de acordo com o tempo decorrido após o parto (Entre 0 e 30 minutos: ficar em pé/caminhar; 30 minutos a 1,5h: tentando se levantar; 1,5h a 3h: decúbito esternal; >3h: de lado, sem esforço para se levantar)

O início dos movimentos dos bezerros, como tentativas de mudar de posição ou levantar, são mais limitados em animais que apresentaram dificuldades no parto. Segundo Murray (2014), animais nascidos de partos distócicos demoraram mais tempo para ficar em decúbito esternal e para tentar ficar em pé em relação a animais nascidos de partos eutócicos. Estes animais reflexo reduzido para mamar, o que pode causar falhas na transferência de imunidade passiva, quando os protocolos de colostragem não são eficientes ou quando o bezerro é deixado para mamar na própria mãe. Resultados semelhantes foram encontrados por Schuijt e Taverne (1994) e Barrier et al. (2012). Já Murray (2014), constata não haver uma relação forte entre tipo de parto e tempo até atingir decúbito esternal, no entanto relatou em seu trabalho que 23 animais de um total de 48, não conseguiram ficar em pé até depois de 2 horas de vida, e destes 23 animais 30% eram nascidos de partos distócicos.

O parâmetro língua/cabeça faz referência ao estado de inchaço em que os bezerros recém nascidos se encontram. No presente estudo 98% dos animais apresentavam a cabeça normal, sem inchaço e a língua para dentro, enquanto que apenas 2% apresentaram a língua para fora, mas sem inchaço (Figura 2.7).

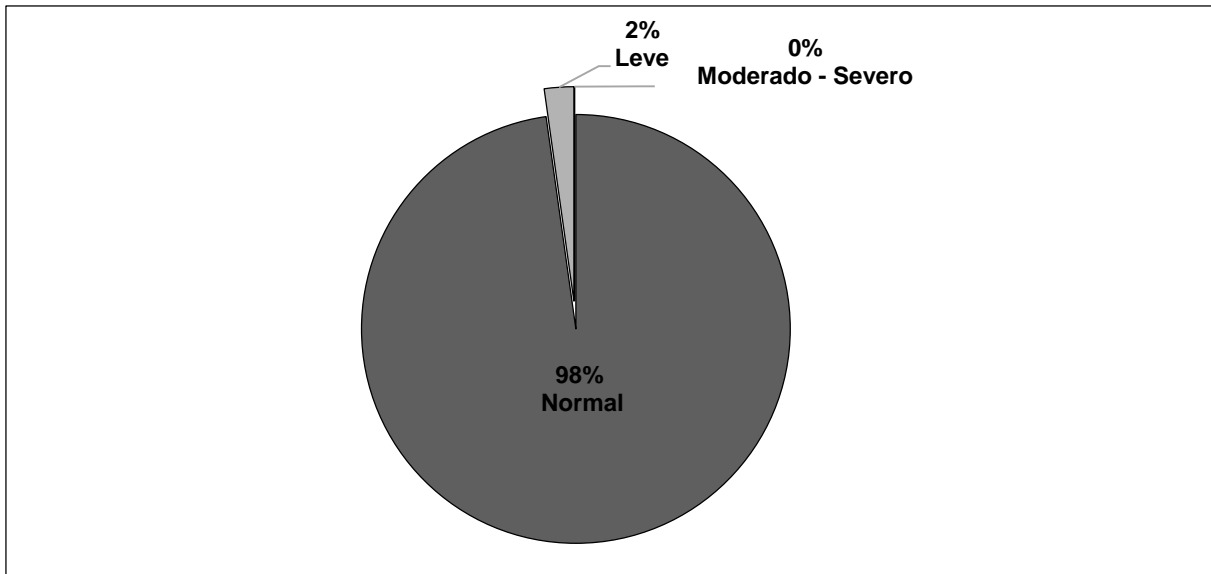


Figura 2.7 - Porcentagem de bezerros quanto a aparência de língua/cabeça nos primeiros 30 minutos de vida. (Normal-sem inchaço, língua para dentro, leve-língua para fora, mas sem inchaço, moderado-língua para fora e inchada, severo-cabeça e língua inchada, língua para fora)

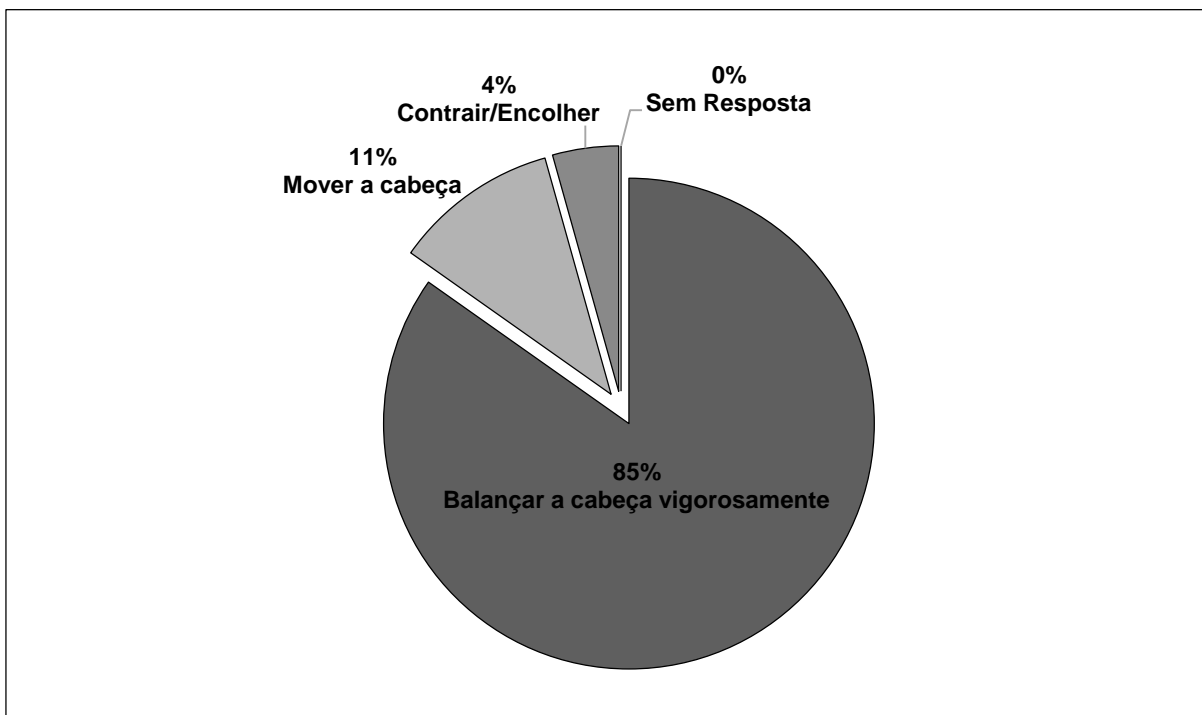


Figura 2.8 - Porcentagem de bezerros quanto a resposta ao estímulo da cavidade nasal nos primeiros 30 minutos e vida

### 2.3.1 Parâmetros metabólicos

A escala Apgar é uma ferramenta que reforça o parecer sobre o status de vigor de bezerros recém-nascidos, podendo ser associada aos parâmetros sanguíneos.

Desta forma, uma das variáveis estudadas foi a concentração plasmática de glicose (Figura 2.9), que apresentou uma média de 61,64 g/dL na hora zero, valor semelhante ao de um ruminante adulto (KOZLOSKI, 2011). Estes valores foram encontrados antes da primeira refeição de colostro e estão relacionados ao metabolismo hepático e ao glicogênio muscular (CHAN et al., 1993).

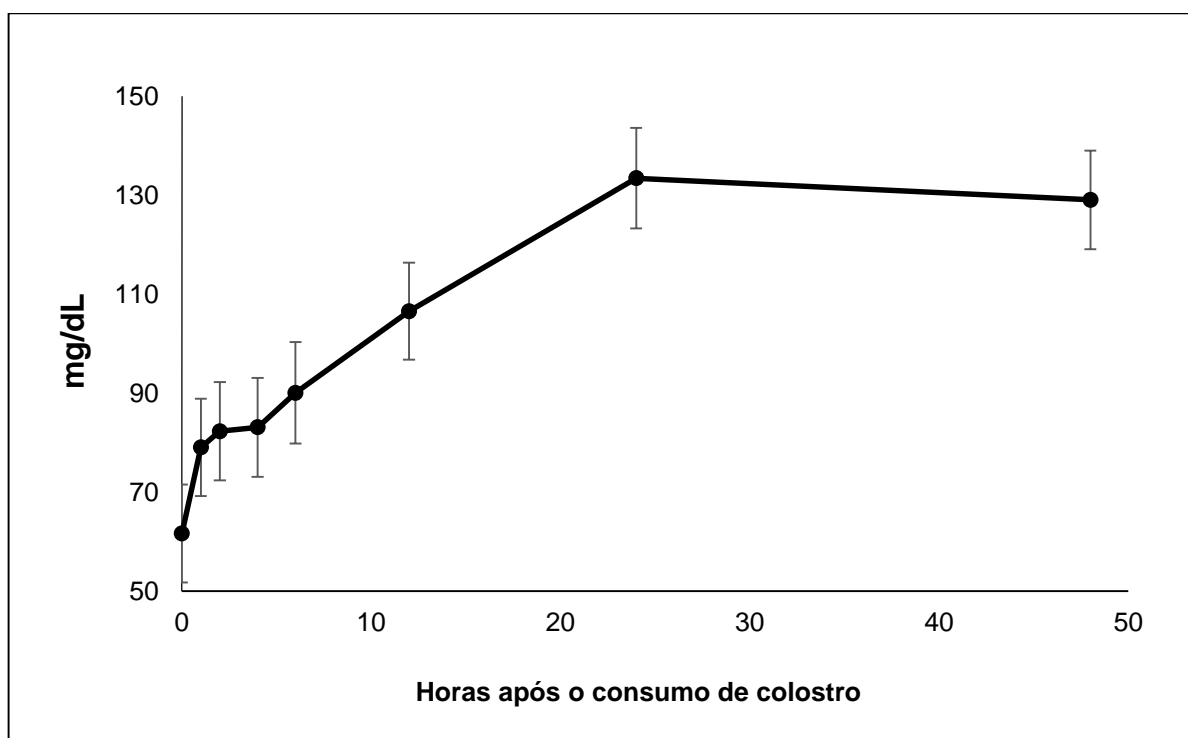


Figura 2.9 - Concentração de glicose plasmática de bezerros recém-nascidos antes e após o consumo de colostro

Após o consumo de colostro, a concentração de glicose apresenta um rápido aumento plasmático. Estes resultados corroboram com os obtidos por Paiva et al. (2006), que também observaram baixos valores de glicose logo após o nascimento, os quais foram aumentando após a ingestão de colostro se estabilizando às 48 horas e permanecendo constante até as 96 horas. O comportamento observado nas primeiras horas é marcado pela primeira refeição após o nascimento, o qual atua como fonte de glicose alterando a concentração plasmática deste metabólito. Afetada principalmente pela quantidade de colostro consumida, a concentração de glicose é alterada com o tempo para a ingestão do colostro, além da quantidade de lactose presente na refeição (BLUM; HAMMON, 2000; KHUNE et al., 2000). No entanto, no presente estudo, o intervalo entre a hora um e as 12 horas após o consumo do primeiro colostro não apresentou diferença, justamente porque durante este período



ocorreu a segunda refeição. Isto é reforçado pelo fato de que os valores voltam a aumentar após às 12 horas até alcançarem o nível máximo às 24 horas após o consumo do primeiro colostro, com média aproximada de 130 mg/dL, a partir do qual se estabiliza. Valores semelhantes são encontrados em animais durante o aleitamento, com redução nos valores a medida que o rúmen vai se desenvolvendo (FERREIRA et al., 2013).

Segundo Tivey et al. (1994), o consumo de colostro, pelo seu conteúdo de carboidratos e lipídeos, poderia regular a atividade da enzima lactase. Esta enzima é fundamental para a digestão e degradação da lactose durante o período de aleitamento, produzindo glicose e galactose, e elevando assim a concentração da primeira no plasma. Por outro lado, devido ao menor conteúdo de carboidratos do colostro, em relação ao leite integral, a gliconeogênese assume um papel fundamental no recém-nascido, de modo a manter os níveis plasmáticos de glicose, sendo portanto, este o principal mecanismo de manutenção das concentrações após as 24 horas.

A partir desta análise é possível inferir que os animais envolvidos neste trabalho estavam em condição glicêmica coerente com a condição de vigor. Segundo Moon et al. (2001), os recém-nascidos de baixo peso ou que tenham sofrido hipoxemia durante o parto distócico, são mais susceptíveis a sofrer hipoglicemia, não tendo sido registrado nenhum caso no presente estudo. Outros autores relatam ainda que a homeostase da glicose poderia ser afetada por eventos estressantes como o parto distócico, resultando em hiperglicemia após o nascimento (VERMOREL et al., 1989; BELLOWS; LAMMOGLIA, 2000; CIVELEK et al., 2008).

Semelhante aos demais parâmetros sanguíneos estudados, a contração de AGNE (ácidos graxos não esterificados) apresentou variação entre o nascimento e as 48 horas após o consumo de colostro (Figura 2.10). Com média de concentração de 0,025 mmol/L  $\pm$ 0,005 às 24 horas após a primeira refeição, esta variável apresentou comportamento decrescente durante o período de avaliação, o que foi inverso ao apresentado pela glicose (Figura 2.9). Estes resultados corroboram com o que foi encontrando por Piccione et al. (2010) e por Lents, Wettemann e Looper (1998), que também observaram redução dos valores de AGNE nos primeiros dias de vida.

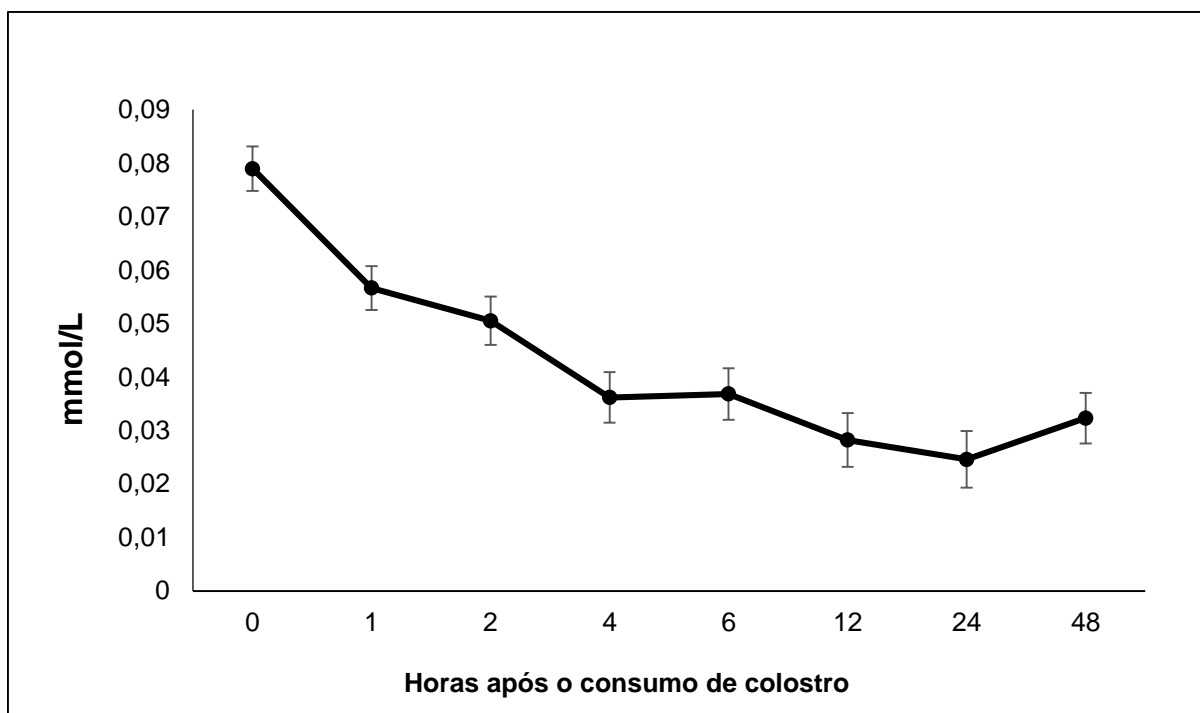


Figura 2.10 - Concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) em bezerros recém-nascidos antes a após o consumo de colostro

A avaliação conjunta da glicose e dos AGNE sugerem um status nutricional com adequando suprimento energético (FERREIRA et al., 2013), uma vez que o aumento de AGNE circulantes pode estar associado ao metabolismo de gordura para suprir a demanda metabólica por energia. Estas relações atestam a importância do colostro como a principal fonte de variação dos parâmetros metabólicos nas primeiras horas de vida (LENTS; WETTEMANN; LOOPER; 1998).

A relação com alimentação também foi observada na variação da PT, a qual é utilizada como um indicador da concentração de IgG circulante, devido à alta correlação existente entre estes dois parâmetros (BORGES et al., 2001; QUIGLEY et al., 2002; JASTER, 2005; ROCHA et al., 2012). A PT apresentou baixa concentração sérica ao nascimento (4,73 mg/dl), o que é esperado em virtude da condição de agamaglobulinemia (Figura 2.10).

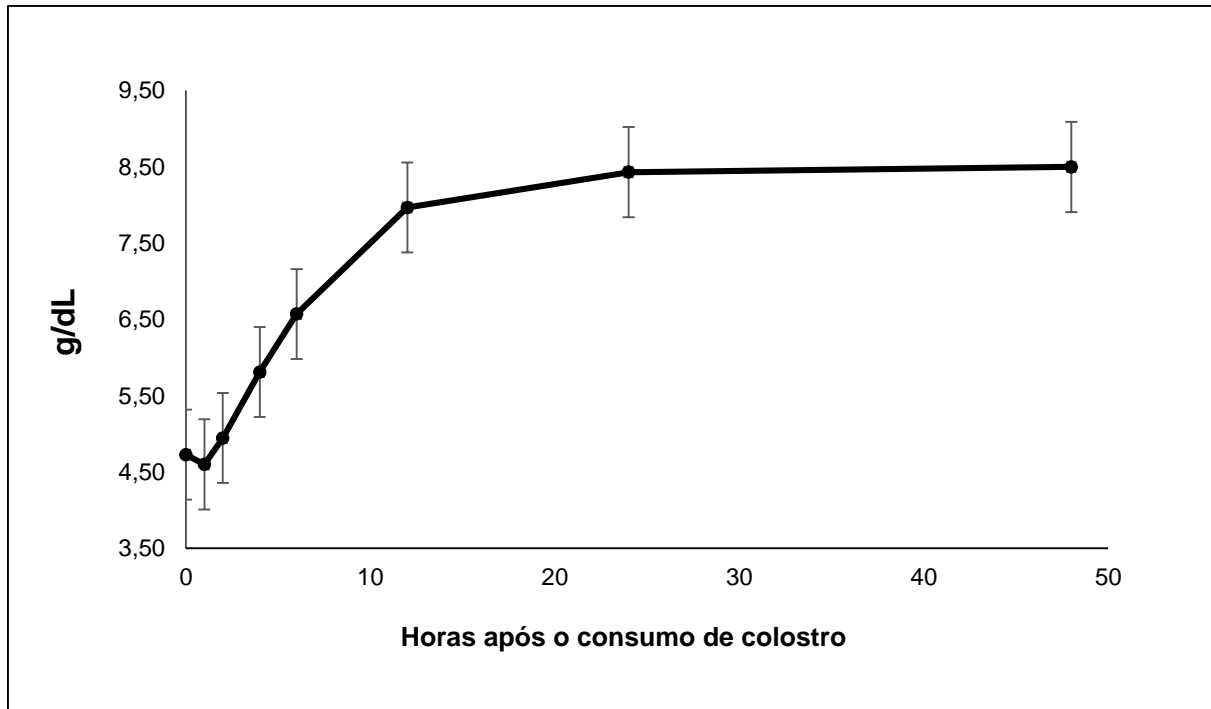


Figura 2.11 - Concentração de proteína sérica total (PT) em bezerros recém-nascidos antes e após o consumo de colostro

A influência da ingestão do colostro pôde ser observada nos primeiros horários de colheita de sangue, pois neste período, até aproximadamente às 24 horas após o consumo do primeiro colostro, foi observado um pronunciado incremento na concentração da fração proteica do sangue (4,73 vs 8,43 g/dL). Este comportamento é decorrente da alta capacidade absorptiva de macromoléculas no intestino delgado de bezerros recém nascidos nas primeiras horas de vida. Esta absorção é máxima durante as primeiras 6 horas de vida, capacidade esta que diminui marcadamente após as 24hs, momento em que a concentração sérica de IgG começa a ter um comportamento constante (SCOTT et al., 1979; ZANKER et al., 2000; JASTER, 2005).

O mesmo padrão de variação foi encontrado por Boyd (1989) que obteve incrementos de 11,3 g/L na concentração de proteína sérica (de 32,7 g/L para 44 g/L) 12 horas após o consumo de colostro, devido a absorção de imunoglobulinas e outras proteínas colostrais. A variação na concentração da PT também foi relatado por Paiva et al. (2006) que encontraram valores mínimos de proteína logo após o nascimento (4,26 g/dL), chegando ao máximo valor às 24 horas de nascimento (5,57g/dL) e se mantendo estáveis até as 96 horas.

A determinação da PT é uma ferramenta utilizada para a estimativa indireta da concentração de imunoglobulinas contidas no soro sanguíneo. Isto é possível pois no

bezerro neonato as imunoglobulinas constituem uma grande proporção da proteína total, sendo a quantidade de proteína não imunoglobulinas no soro, a exemplo da albumina, relativamente constante em bezerros (CALLOWAY et al., 2002). A albumina é uma proteína encarregada de manter a pressão osmótica no soro sanguíneo e apresenta concentração variável como consequência da flutuação de outras proteínas séricas (GUYTON, 2002).

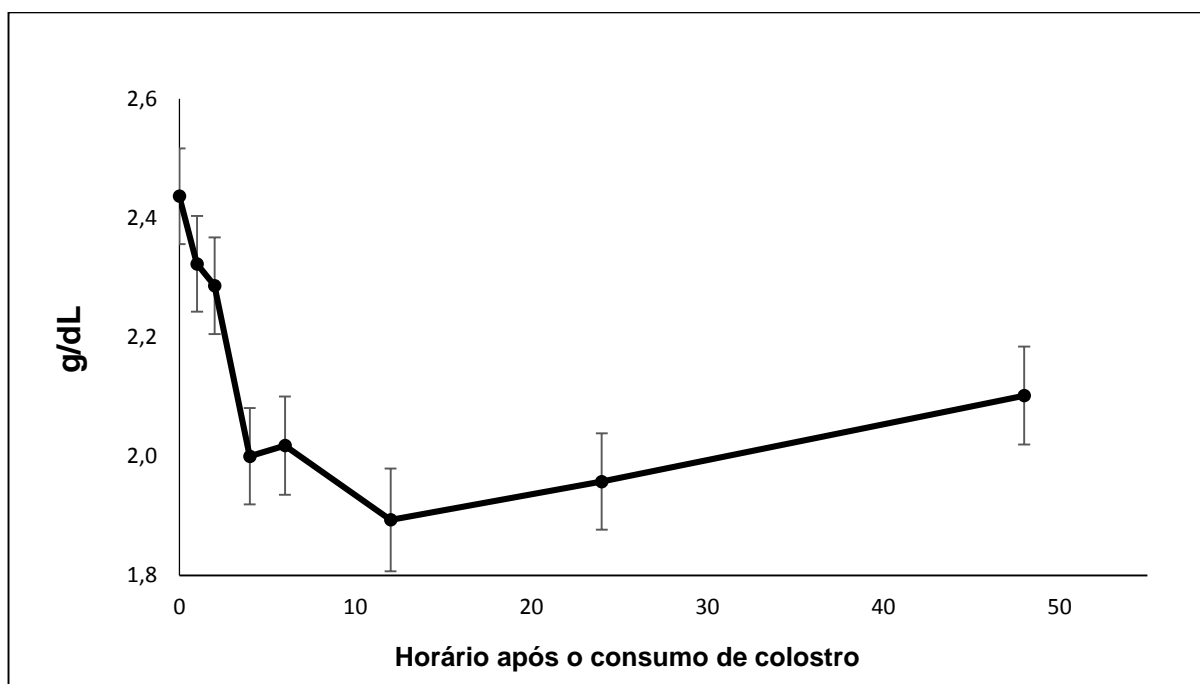


Figura 2.12 - Concentração de albumina sérica em bezerros recém-nascidos antes e após o consumo de colostro

A concentração da albumina (Figura 2.12) apresentou uma queda acentuada logo nas primeiras horas de vida, alcançando o seu valor mínimo entre 4 e 12 horas após o consumo de colostro, tendendo a aumentar depois disto, mas mantendo-se mais baixa que a concentração no momento do nascimento. Este comportamento na curva de albumina coincide com o reportado por Rocha et al. (2012), Zanker et al. (2000) e Knowles et al. (2000) que relataram um reestabelecimento nas concentrações de albumina até os 30 dias de vida, após o período de queda,.

Estas variações indicam uma condição de nascimento satisfatória, pois se encontram de acordo com os resultados apresentados comumente por indivíduos saudáveis (KURZ, WILLETT, 1991; ROCHA et al., 2012;). Em concordância, Boyd (1989) relatou uma leve diminuição de albumina sérica até 12 horas depois do consumo, processo decorrente da diminuição proporcional de células vermelhas,

devido ao aumento do volume total de plasma. Em contrapartida Hadorn et al. (1997), Kühne et al. (2000) e Rauprich et al. (2000) relataram que a concentração de albumina plasmática tende a aumentar durante a primeira semana de vida do bezerro, o que depende da qualidade do colostro consumido e do metabolismo hepático.

A concentração de fosfatase alcalina também apresentou variação durante as primeiras horas de vida dos bezerros (Figura 2.13). Com comportamento crescente, esta enzima alcançou seu valor máximo de concentração às 12 horas após o consumo da primeira refeição e diminuiu nos horários subsequentes (Figura 2.13). Isto discorda dos resultados apresentados por Bouda et al. (1980), que relataram valores máximos de fosfatase alcalina apenas às 24 horas após o fornecimento do colostro, com queda na concentração desta enzima nos dias seguintes. Knowles et al. (2000), descreveram que este aumento em bezerros recém-nascidos pode alcançar quatro vezes o limite superior do intervalo de referência, quando comparados com os adultos. Zanker et al. (2001) reportaram um aumento transitório na concentração da fosfatase alcalina, no entanto, a concentração desta enzima poderia aumentar como consequência da produção endógena ou ser independente do consumo de colostro (FAY et al., 1981). Como nesta fase o neonato depende do colostro como fonte de energia e de componentes imunitários, esta secreção láctea também pode atuar como fornecedor desta enzima para a corrente sanguínea.

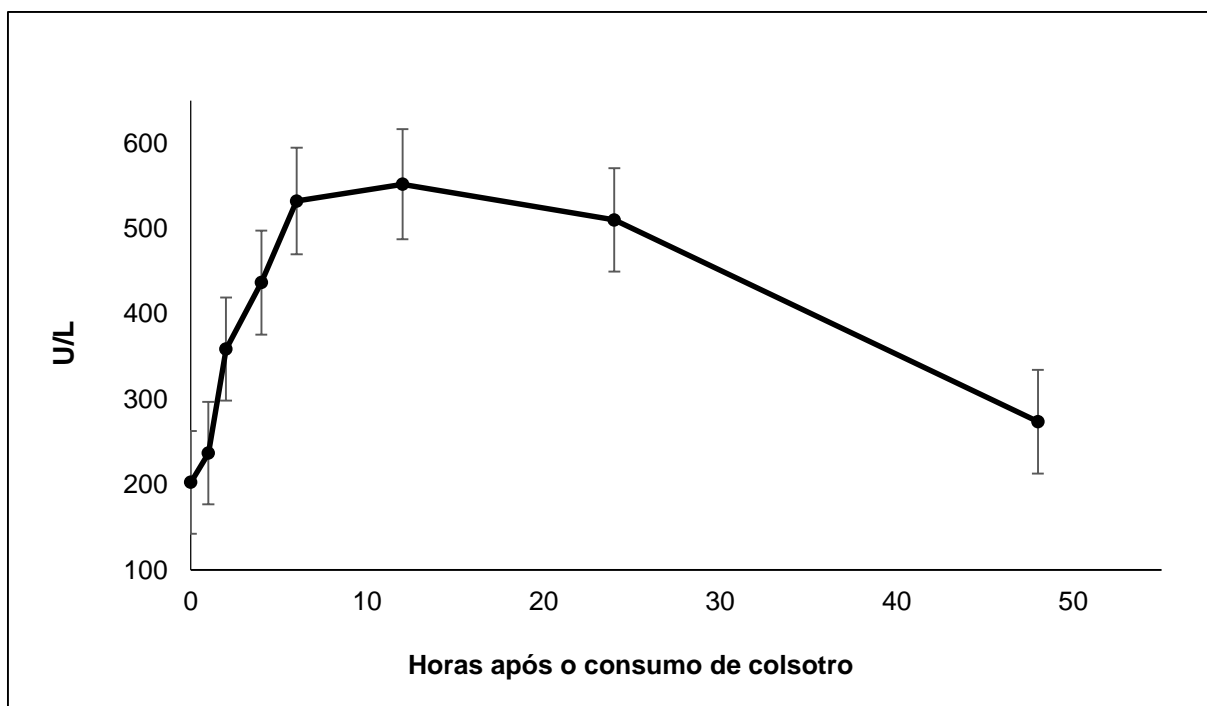


Figura 2.13 - Concentração da fosfatase alcalina em bezerras antes e após o consumo de colostro

A fosfatase alcalina, enzima encontrada em vários tecidos, principalmente na mucosa intestinal, fígado e ossos, é um componente sanguíneo com elevação da concentração sérica comumente encontrada em animais em crescimento ou em adultos com atividade osteoblástica, assim como nos casos de doenças hepáticas agudas e crônicas. Em bezerras, os maiores níveis são registrados na primeira semana de vida (TENNANT, 1997) como consequência da absorção interstinal do colostro.

## 2.4 Conclusão

Apesar de alguns dos parâmetros propostos pela escala Apgar individualmente indicarem uma subcondição de vigor, quando os mesmos foram avaliados conjuntamente, sugerem que os animais apresentam boa condição de vigor, condizente com partos eutócicos. As flutuações dos metabolitos sanguíneos foram afetadas pelo consumo de colostro, aumentando a disponibilidade de energia para os animais, com aumentos na concentração de glicose e redução de AGNE. Da mesma forma, o consumo de colostro aumentou a concentração de frações proteicas comumente utilizadas como indicativos da transferência de imunidade passiva.

## Referências

- ALDRIDGE, B.; GARRY, F.; ADAMS, R. Role of colostral transfer in neonatal calf management: failure of acquisition of passive immunity. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Ottawa, v. 14, p. 265-270, 1992.
- BACCARI JÚNIOR, F. Métodos e técnicas de avaliação da adaptabilidade dos animais às condições tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BIOCLIMATOLOGIA ANIMAL NOS TRÓPICOS, 1., 1990, Fortaleza. **Anais...** Brasília: EMBRAPA, DIE, 1990. p. 9-17.
- BARRIER, A.C.; RUELLE, E.; HASKELL, M.J.; DWYER, C.M. Effect of a difficult calving on the vigour of the calf, the onset of maternal behaviour, some behavioural indicators of pain in the dam. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 103, p. 248–256, 2012.
- BELLOWS, R.A.; LAMMOGLIA, M.A. Effects of severity of dystocia on cold tolerance, serum concentrations of glucose, cortisol in neonatal beef calves. **Theriogenology**, Fort Collins, v. 53, p. 803-013, 2000.
- BENESI, F.J. Síndrome asfixia neonatal nos bezerros. Importância e avaliação crítica. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, Salvador, v. 16, p. 38-48, 1993.
- BLUM, J.W.; HAMMON, H. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, on nutritional, endocrine, metabolic parameters in neonatal calves. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 66, p. 151-159, 2000.
- BORGES, A.S.; FEITOSA, F.L.F.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; MENDES L.C.N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, p. 629-634, 2001.
- BOUDA, J.; DVORAK, V.; MINKSOVA, E.; DVORAK, R. The activities of GOT, gamma- GT, alkaline phosphatase in blood plasma of cows, their calves fed from bulkets. **Acta Veterinaria Brno**, Brno, v. 49, p. 183-198, 1980.
- BOVINO, F. **Determinação do escore Apgar, dos valores hemogasométricos e do proteinograma sérico em cordeiros (*Ovis aries*) nascidos de partos normais e de cesarianas**. 2011. 86 p. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Médica e Cirúrgica) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2011.
- BOYD, J.W. Relationships between acid-base balance, serum composition, colostrums absorption in newborn calves. **British Veterinary Journal**, London, v. 145, p. 249-256, 1989.

CALLOWAY, D.C.; TYLER, J.W.; TESSMAN, R.K.; HOSTETLER, D.; HOLLIE, J. Comparison of refractometers, test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. **Journal Animal Veterinary Medicine Association**, Boston, v. 221, p. 1605–1608, 2002.

CHAN, W.W.; LONKER, F.H.; RAUSCH, W.D.; TAVERNE, M.A.M. Plasma catecholamines, blood chemistry in newborn calves in relation to different obstetrical procedures, to neonatal outcome. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 34, p. 43-54, 1993.

CARSTENS, G.E. Cold thermoregulation in the newborn calf. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, Los Angeles, v. 10, p. 69 -106, 1994.

CIVELEK, T.; CELIK, H.A.; AVCI, G.; CINGI, C.C. Effects of dystocia on plasma cortisol, cholesterol levels in Holstein heifers, their newborn calves. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, Pulawy, v. 52, p. 649–654, 2008.

DAVIS, R.O.; PHILIPS, J.B.; HARRIS, B.A.; WILSON, E.R.; HUDDLESTON, J.F. Fatal meconium aspiration syndrome occurring despite airway management considered appropriate. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, Sait Louis, v. 151, p. 731-736. 1985.

DWYER, C.M. Behavioral development in the neonatal lamb: effect of maternal, birth-related factors. **Theriogenology**, Fort Collins, v. 59, p. 1027-1050, 2003.

FAY, J.P.; CHENG, X.J.; COSTERTON, J.W. Alkaline phosphatase activity associated with the walls of different organs of the gastrointestinal tract in newborn, young, yearling bovines: effects of diet, fasting. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 61, p. 311-318, 1981.

FEITOSA, F.L.F.; PERRI, S.H.V.; BOVINO, F.; MENDES, L.C.N.; PEIRÓ, J.R.; GASPARELLI, E.R.F.; YANAKA, R.; CAMARGO, D.G. Evaluation of the vitality of nelore calves born of normal or dystocic parturitions. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, v. 8, p. 1-7, 2012.

FERREIRA, L.S.; BITTAR, C.M.M.; SILVA, J.T.; SOARES, M.C.; OLTRAMARI, C.E.; NÁPOLES, G.G.E.; PAULA, M.R. Desempenho e parâmetros sanguíneos de bezerros leiteiros que receberam sucedâneo lácteo ou silagem de colostro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 65, p. 1357-1366, 2013.

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

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1115 p.



HADORN, U.; HAMMON, H.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Delaying colostrum intake by one day has important effects on metabolic traits and on gastrointestinal and metabolic hormones in neonatal calves. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 127, p. 2011-2023, 1997.

JASTER, E.H. Evaluation of quality, quantity, and timing of colostrum feeding on immunoglobulin G1 absorption in jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 296–302, 2005.

JOHANSON, J.M., BERGER, P.J. Birth weight as a predictor of calving easy, perinatal mortality in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 3745–3755, 2003.

KNOWLES, T.G.; EDWARDS, J.E.; BAZELEY, K.J.; BROWN, S.N.; BUTTERWORTH, A.; WARRISS, P.D. Changes in the blood biochemical, haematological profile of neonatal calves with age. **Veterinary Record**, Amsterdam, v. 147, p. 593–598, 2000.

KOLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2011. 212 p.

KÜHNE, S.; HAMMON, H.M.; BRUCKMAIER, R.M. Growth performance, metabolic, endocrine traits, intestinal absorptive capacity in neonatal calves fed either colostrum or milk replacer at low, high intensities. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 609-620, 2000.

KURZ, M.M.; WILLETT, L.B. Physiology and management; carbohydrate, enzyme, and hematology dynamics in newborn calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 2109– 2118, 1991.

LENTS, C.A.; WETTEMANN, M.; LOOPER, L. Concentrations of GH, IGF-I, Insulin, and glucose in postnatal beef calves. **Animal Science Research Reproduction**, Oklahoma, v. 83, p. 215-222, 1998.

LOMBARD, J.E.; GARRY, F.B.; TOMLINSON, S.M.; GARBER, L.P. Impacts of dystocia on health, survival of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 1751-1760, 2007.

MEE, J.F. Newborn dairy calf management. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, Boston, v. 24, p. 1-17, 2008.

MOON, P.F.; MASSAT, B.J.; PASCOE, P.J. Neonatal critical care. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Amsterdam, v. 31, p. 343-366, 2001.

MURRAY, C.F. **Characteristics, risk factors, management programs for vitality of newborn dairy calves**. 2014. 264 p. Thesis (PhD in Population Medicine) - The University of Guelph, Guelph, 2014.

MURRAY, R.D.; WILLIAMS, A.J.; SHELDON, I.M. Field investigation of perinatal mortality in Friesian cattle associated with myocardial degeneration. **Necrosis. Reproduction Domestic Animal**, Bethesda, v. 43, p. 339–345, 2008.

PAIVA, F.A.; NEGRÃO, J.A.; BUENO, A.R.; SARAN-NETTO, A.; LIMA, C.G. Efeito do manejo de fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabólitos plasmáticos de bezerros Holandeses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, p. 739-743, 2006.

PICCIONE, G.; GIANNETTO, C.; CASELLA, G.; CAOLA, G. Daily locomotor activity in five domestic animals. **Animal Biology**, New York, v. 60, p. 15-24, 2010.

QUIGLEY, J.D.; KOST, C.J.; WOLFE, T.M. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 1243–1248, 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.E. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, goats**. 10<sup>th</sup> ed. London: W.B. Saunders, 2007. 2065 p.

RAUPRICH, A.B.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Effects of feeding colostrum, a formula with nutrient contents as colostrum on metabolic, endocrine traits in neonatal calves. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 78, p. 53–64, 2000.

RAVARY-PLUMIOËN, B. Resuscitation procedures, life support of the newborn calf. **Revue Médecine Vétérinaire**, Lyon, v. 160, p. 410-419, 2009.

ROCHA, T.G.; NOCITI, R.P.; SAMPAIO, A.A.M.; FAGLIARI, J.J. Passive immunity transfer and sérum constituents of crossbred calves. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, p. 515-522, 2012.

RODRIGUES, J.A. **Assistência clínica maternal e neonatal às diferentes condições obstétricas em bovinos da raça Holandesa**. 2008. 94 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SCHUIJT, G.; TAVERNE, M.A.M. The interval between birth, sternal recumbency as an objective measure of the vitality of newborn calves. **Veterinary Record**, Amsterdam, v. 135, p. 111-115, 1994.

STANTON, H.C.; CARROLL, J.K. Potential mechanisms responsible for prenatal, perinatal mortality or low viability of swine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 38, p. 1037–1044, 1974.

STOTT, G.H.; MARX, D.B.; MENEFFEE, B.E.; NIGHTENGALE, G.T. Colostral immunoglobulin transfer in calves I. period of absorption. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, p. 1632–1638, 1979.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. 916 p.

TIVEY, D. R.; LE DIVIDICH, J.; HERPIN, P.; BROWN, D.; DAUNCEY, M.J. Differential effects of lipid, carbohydrate on enterocyte lactase activity in newborn piglets. **Experimental Physiology**, New York, v. 79, p. 189–201, 1994.

VERMOREL, M.; VERNET, J.; DARDILLAT, C.; SAIDO, J.; DEMIGNE, C. Energy metabolism, thermo-regulation in the newborn calf; variations during the first day of life, differences between breeds. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 69, p. 103–111, 1989.

WANG, Z. and GOONEWARDENE, L. A. The use of MIXED models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. **Canadian Journal Animal Science**, Ottawa, v.84, p. 1–11, 2004.

WIGGLESWORTH, J.S. **Perinatal pathology**. Philadelphia: Saunders, 1984. 630 p.

ZANKER, I.A.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Activities of  $\gamma$ -glutamyl transferase, alkaline phosphatase, aspartate-aminotransferase in colostrum, milk, blood plasma of calves fed first colostrum at 0 $\pm$ 2, 6 $\pm$ 7, 12 $\pm$ 13, 24 $\pm$ 25 h after birth. **Journal of Veterinary Medicine Association, Physiology and Pathology Clinical Medicine**, Berlin, v. 48, p. 179-185, 2001.

### **3 EFEITO DO HORÁRIO DA COLHEITA DE AMOSTRAS DE SANGUE NA AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA EM BEZERROS LEITEIROS**

#### **Resumo**

O objetivo deste estudo foi determinar o melhor horário para o uso do refratômetro de Brix na avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos. Foram utilizados 47 bezerros neonatos de ambos os sexos, nascidos entre março e julho de 2014. O colostro foi ordenhado após o parto e a qualidade determinada com auxílio do colostrômetro e do refratômetro digital. Após o nascimento os bezerros foram separados das mães, receberam seis litros de colostro até às 6 horas de vida, foram pesados e alocados em abrigos individuais no bezerreiro experimental das respectivas instituições. A colheita de sangue para a análise de parâmetros sanguíneos seguiu os horários de 0h (antes da ingestão), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96 e 120h, contadas a partir da ingestão do colostro. O hematócrito foi determinado com uso de capilar contendo uma alíquota de sangue, centrifugado e medido em régua apropriada. A concentração de proteína total (PT) foi determinada por refratômetro de Brix e por kit enzimático em Sistema Automático para Bioquímica. Os demais parâmetros sanguíneos foram determinados por kit enzimático específico para cada parâmetro em Sistema Automático para Bioquímica. A contagem global e diferenciada das células sanguíneas foi realizada nos tempos 0, 12 e 24h após o fornecimento do colostro. O colostro se manteve na faixa de boa qualidade, segundo os critérios de classificação de medidas pelo colostrômetro e refratômetro digital de Brix. A concentração PT foi crescente nas primeiras horas de vida, logo após a ingestão de colostro, alcançando estabilidade entre as 24 - 48 horas após o consumo de colostro. A concentração deste parâmetro diferiu entre os métodos de determinação, com maior concentração obtida pelo método enzimático. A concentração de albumina decresceu entre 0 e 12 horas após o consumo de colostro, se mantendo constante no período subsequente. Não foram observadas diferenças para os valores de hematócrito entre os horários de colheita de sangue. A contagem global de eritrócitos foi maior ao nascer (0 hora) em comparação com os horários 12 e 24 horas após o consumo do colostro, não havendo diferença entre 12 e 24 horas. O volume globular médio (VGM) não apresentou diferença entre os horários de colheita. A contagem de leucócitos foi maior às 12 horas após o consumo do colostro, em comparação com os horários 0 e 24 horas. Quanto a contagem diferenciada, não houve diferença de médias proporcionais para as classes eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos, mas houve diferença para os neutrófilos bastonetes, sendo maior com 12 horas e 24 horas. As concentrações de gama-glutamil transferase (GGT) e fosfatase alcalina foram crescentes até à 6 horas após a ingestão do colostro. Os protocolos de colostragem devem considerar a qualidade do colostro e a massa de Ig que garanta a adequada transferência de imunidade. A avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos deve ser realizada por volta das 24 horas após a ingestão do colostro, pois neste momento a absorção de macromoléculas colostrais já está encerrada e a PT alcança estabilidade. A partir deste período, não é possível determinar se as frações proteicas avaliadas são de origem colostrálica ou endógena, o que não garante avaliação segura sobre a transferência de imunidade passiva.

Palavras-chave: Proteína; Gama-glutamil transferase; Leucócitos; Neonatos

## **Abstract**

The aim of this trial was to determine the best sampling time to evaluate the transfer of passive immunity in dairy calves using a brix refractometer. Forty-seven newborn calves, from both sexes, born from March to July 2014, were evaluated. Cows were milked after calving and colostrum quality was evaluated using a colostrometer and a brix digital refractometer. Calves were separated from their mothers just after birth, received 6L of colostrum during the first 6H of life, were weighted and individually housed. Blood samples were taken from calves at 0h (before intake), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 120h and 96, after colostrum intake. Hematocrit was determined with a centrifuge and blood samples in capillary tube. Total protein (TP) concentration was determined by a brix refractometer and an enzymatic kit using an automatic biochemical system. All blood parameters were analyzed using specific enzymatic kits and an automatic biochemical system. The global and differential blood cell count were performed at times 0, 12 and 24h after colostrum feeding. Colostrum has remained in the range of good quality according to the criteria of classification measures by colostrometer and digital Brix refractometer. Concentration of TP increased during the first hours after colostrum intake, reaching stability between 24 and 48 hours. The concentration of TP was different according to the method of determination, with higher values observed for the enzymatic one. Albumin concentration decreased from 0 to 12 hours after colostrum intake, remaining constant thereafter. No differences were observed for hematocrit according to time after colostrum intake. Total erythrocytes count were higher at birth as compared to 12 and 24 hours after colostrum intake, with no differences between these two evaluation times. Mean corpuscular volume, were not affected by sampling time after colostrum intake. Leucocytes count were higher at 12 hours after colostrum intake, as compared to 0 and 24 hours evaluation times. As regard to differential count, there were no differences for the proportional means for eosinophils, basophils, lymphocytes, and monocytes; however, band neutrophils were higher at 12 and 24 hours. Gamma-Glutamyl transferase and alkaline phosphatase concentrations increased up to 6 hours after colostrum intake. Colostrum feeding protocols should consider colostrum quality and the mass of Ig to provide adequate passive immunity transfer. Evaluation of passive immunity transfer should be done approximately with 24 hours after colostrum feeding, because at this point macromolecules absorption is finished and TP reaches stability. After this period, it is not possible to determine if protein fractions are from colostrum or endogenous origin, which does not guarantee a safe evaluation of passive immunity transfer.

**Keywords:** Protein; Gamma-glutamyl transferase; Leucocytes

## **3.1 Introdução**

A atividade de produção leiteira tem na fase de cria uma das etapas mais importantes do sistema de produção, pois é por meio dela que se obtêm as novilhas de reposição para o rebanho. Cada etapa envolve características específicas que demandam atenção, sendo que o momento após o nascimento envolve aspectos práticos relacionados ao estabelecimento da imunidade do bezerro recém-nascido que poderão influenciar a vida produtiva dos animais na fase adulta.

Diferenciada de outras espécies de produção devido à estrutura placentária sindesmocorial, a espécie bovina não apresenta fluxo de anticorpos materno para o feto durante a gestação. Como resultado disto, ao nascer, o neonato sai do ambiente uterino para um ambiente rico em microrganismos, onde muitos deles podem representar uma ameaça ao organismo que ainda apresenta um sistema de defesa imaturo.

Por esta razão, secreção láctea obtida na primeira ordenha após o parto, denominada colostro, tem papel fundamental para adequada proteção imunitária no início da vida do bezerro, uma vez que é fonte e veículo responsável pela transferência de imunidade materna para o bezerro. A colostrogênese tem início por volta de quatro semanas antes do parto, quando fatores, dos quais se destacam as imunoglobulinas (Ig são transferidas da corrente sanguínea da mãe para a glândula mamária. Uma vez que estas moléculas compõem o colostro é necessário que sejam fornecidas ao neonato em tempo hábil para que possam desempenhar a sua função imunitária no organismo.

Neste contexto, a quantidade e a qualidade do colostro quanto ao conteúdo de fatores imunitários associados ao tempo, são fatores que devem ser considerados para se garantir uma colostragem de sucesso. Destacando o tempo, pois, é nas primeiras horas após o nascimento que o epitélio intestinal dos bezerros tem capacidade de absorver macromoléculas na sua forma integral. Neste período, que se dá logo após o nascimento, as imunoglobulinas devem chegar ao intestino por meio da administração do colostro.

Há casos em que o fornecimento do colostro não ocorre dentro do tempo de maior absorção ou mesmo outros fatores relacionados ao indivíduo ou ao manejo pós-parto, interferem na adequada absorção de imunoglobulinas pelo bezerro, caracterizando-o com um quadro de falha de transmissão da imunidade passiva (FTIP). O diagnóstico de FTIP é importante para um bom acompanhamento dos índices produtivos do rebanho, pois antecipa possíveis problemas sanitários e de desenvolvimento nos animais.

Para o diagnóstico das condições de imunidade dos bezerros é necessário o monitoramento dos animais ainda nos primeiros dias de vida. A determinação da concentração de imunoglobulina de origem colostrar circulante no soro dos animais, é uma delas. Este monitoramento pode ser feito por meio de análises laboratoriais como o método de imunodifusão radial (IRD), turbidimetria por sulfato de zinco, além da

avaliação da atividade da enzima Gama-Glutamil Transferease, metodologias onerosas e de pouca praticidade em rebanhos comerciais. Outro método é a utilização do refratômetro portátil óptico, um equipamento relativamente barato com uma técnica simples que utiliza o soro para a leitura da proteína total. No entanto, ainda não há consenso quanto a recomendação para o melhor momento de avaliação da transferência de imunidade por este método, pois a proteína total sérica é influenciada não só pela concentração de imunoglobulinas, mas também por proteínas endógenas que passam a ser produzidas pelo recém-nascido após sua primeira refeição. Assim o objetivo deste estudo foi determinar o melhor horário para o uso do refratômetro de Brix na avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos após a ingestão de colostro.

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Animais e Manejo**

O experimento foi realizado com animais do rebanho do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' – USP/ESALQ, Piracicaba - SP (n=36, Holandês x Gir) e do rebanho da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional Centro Leste, Ribeirão Preto-SP (n=11, Jersey x Gir). Foram utilizados um total de 47 bezerros neonatos de ambos os sexos, nascidos entre os meses de março e julho de 2014.

Após o nascimento os bezerros foram separados das mães, pesados em balança mecânica (ICS-300, Coimma LTDA., Dracena, SP, Brasil) e alocados em abrigos individuais no bezerreiro experimental das respectivas instituições, onde foram contidos por coleira e corrente permitindo livre acesso a água e ração. Os animais tiveram o umbigo curado com iodo a 7% ao nascer e depois pelo menos duas vezes ao dia, até completa desidratação e queda do cordão.

Foram fornecidos seis litros de colostro de boa qualidade (acima de 50 mg de Ig/dL), em duas refeições nas primeiras seis horas de vida dos animais. O colostro materno foi ordenhado logo após o parto e então foi determinada a qualidade com auxílio do Colostrômetro e do refratômetro digital (HI 96811 – HANNA – Wine Line). O colostro classificado com boa qualidade foi fornecido ao neonato, mas no caso de colostro materno de baixa qualidade, recorreu-se ao banco de colostro. Nesta situação

o colostro foi descongelado em banho-maria a 60° e fornecido com auxílio de mamadeira. Nos casos de recusa a ingestão do colostro, o mesmo foi fornecido com auxílio de sonda esofágica, como forma de garantir a colostragem em tempo e quantidade adequada. Após 12hs de nascidos, os animais foram alimentados com quatro litros de colostro de baixa qualidade (abaixo de 30mg de Ig/dL) também fornecidos em duas refeições dentro da rotina de manejo do bezerreiro.

A partir do segundo dia de vida os bezerros provenientes do rebanho da USP/ESALQ passaram a receber quatro litros diários de sucedâneo lácteo (SPRAYFO VIOLETA – Sloten do Brasil LTDA., Santos, SP, Brasil, 21,6 PB; 13,8 EE; 12,5% de sólidos) como dieta líquida, também fornecido em duas refeições (07:00 e 17:00). Os animais da fazenda experimental da APTA, a partir do mesmo período, passaram a receber quatro litros de leite não comercializável, em duas refeições diárias (07:00 e 15:30).

Logo após o parto foram colhidas amostras de sangue materno da artéria coccígea em tubo vacuolizado sem anticoagulante (Z serum Sep. Clot Activador. VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil.) e tubo vacuolizado contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil), para as análises de proteína total e albumina, respectivamente.

As colheitas de sangue dos bezerros seguiram os horários de 0h (antes da ingestão do colostro), 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96 e 120h, contadas a partir da ingestão do colostro. As amostras foram colhidas através da punção da veia jugular em tubo vacuolizado sem anticoagulante e tubo vacuolizado contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 2000 x g por 20 minutos a temperatura de 4°, para obtenção de soro ou plasma, que foram armazenados em microcubos plásticos e acondicionadas em freezer para determinação da proteína total e albumina.

### **3.2.2 Metodologia analítica**

Uma alíquota de sangue colhida em tubo vacuolizado (Z serum Sep. Clot Activador. VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil.) foi utilizada, preenchendo-se 3/4 do tubo capilar (Classcyto®) sem heparina, e centrifugado em microcentrífuga



(Modelo SPIN 1000 – MICROSPIN) a 12.000 x g por 10 minutos e posteriormente medidos em porcentagem com uso de régua para microhematócrito.

A determinação da concentração de proteína sérica foi realizada em todos os horários de coleta. Foi utilizada uma alíquota de soro gotejada sobre a lente do refratômetro manual para proteína (REF301, 0~12g/dL, Kiltler), com calibragem ajustada com água destilada, segundo as normas do fabricante.

A concentração de proteína total também foi determinada a partir do kit enzimático PROTEINAS TOTAIS – Ref.: 99-250 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil), por meio de espectrofotometria de ponto final, com filtro de absorvância de 540nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.). O método utiliza 400 µL de reagente biureto pipetado em 8 mL de amostra ou solução padrão (4 g/dL), incubadas a 37° por 10 minutos. Após a incubação, as reações das amostras com reagente formaram um composto de cor púrpura, com absorvância proporcional a concentração de proteínas da amostra.

As concentrações de albumina foram determinadas a partir do kit enzimático ALBUMINA K (LABTEST Diagnóstica S. A. Lagoa Santa, MG, Brasil), por meio de espectrofotometria de ponto final, com filtro de absorvância de 630nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.).

A determinação da concentração da enzima fosfates alcalina foi realizada através do Kit Fosfatse Alcalina Liquiform (LABTEST Diagnóstica S. A.) utiliz,o-se filtro de 405 nm com leitura feita em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.).

Para a determinação da concentração da enzima Gama Glutamil-transferase, foi utilizado Kit Fosfatse Alcalina Liquiform (LABTEST Diagnóstica S. A.) utiliz,o-se filtro de 405 nm com leitura feita em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA – 200 (CELM, Barueri, SP, Brasil.).

### **3.2.3 Eritograma**

O método utilizado para contagem global das células sanguíneas foi realizada com amostras de sangue colhidas em tubo vacuolizado contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil) nos tempos 0, 12 e 24h após o fornecimento do colostro.

Após a colheita, uma alíquota do sangue foi diluída, em proporção conhecida do líquido diluidor Solução de Gower para a conservação das células em estudo. A diluição foi feita com a pipetagem de 4 mL do líquido diluidor em um tubo de ensaio. Em seguida, este conteúdo foi acrescido de 0,02 mL de sangue, lavando com ele o interior da ponteira por aspiração e expulsão do líquido. A diluição com concentração de 1:200, foi agitada suavemente por inversão para correta homogeneização. Com o auxílio de uma pipeta preencheu-se os retículos da câmara de contagem, evitando excesso de líquido e bolhas de ar sob a lamínula aderida firmemente à câmara. O preparado foi deixado repousar por dois minutos para sedimentação dos glóbulos. Em seguida, a preparação foi observada no microscópio para localizar a distribuição uniforme das hemácias. Com auxílio de uma lente de 400X, foi feita a contagem de todas as hemácias encontradas nos cinco quadrados distribuídos na diagonal do quadrado central do fundo da câmara de Neubauer.

Para se obter a quantidade de hemácias por mL de sangue, a seguinte fórmula foi utilizada:

$$\text{Eritrócitos } \mu/L = H.c. \times 5 \times 10 \times 200$$

Onde H.c. é o número de células contadas; 5 é correspondente aos cinco dos 25 quadrados médios; 10 corresponde à profundidade de 10mm dos espaço da câmara de Neubauer e 200 correspondente a proporção da diluição.

### 3.2.4 Volume globular médio (VGM)

A determinação do volume globular médio corresponde ao volume médio de hemácias, considerando o hematócrito em % e a contagem total de eritrócitos expressa em  $\mu L$ . O resultado é expresso em  $\mu m^3$  e foi obtido a partir da seguinte fórmula:

$$VGM = \frac{Hct \times 100}{\text{número de eritrócitos } / \mu L (\text{dois primeiros algarismos})}$$

Onde Hct corresponde a hematócrito expresso em porcentagem e Cte à contagem total de eritrócitos.

### 3.2.5 Leucograma

A determinação da série branca foi feita por contagem de leucócitos na câmara de Neubauer. O método utilizado para contagem global das células sanguíneas foi realizada com amostras de sangue colhidas em tubo vacuolizado contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil) nos tempos 0, 12 e 24h após o fornecimento do colostro.

Após a colheita, uma alíquota do sangue foi diluída, em proporção conhecida do líquido diluidor Solução Turk para a conservação das células em estudo. A diluição foi feita com a pipetagem de 0,4 mL do líquido diluidor em um tubo de ensaio. Em seguida, este conteúdo foi acrescido de 0,02 mL de sangue, lavando com o mesmo o interior da ponteira por aspiração e expulsão do líquido. A diluição com concentração de 1:20, foi agitada suavemente por inversão para uma correta homogeneização. Com o auxílio de uma pipeta preencheu-se os retículos da câmara de contagem, evitando excesso de líquido e bolhas de ar sob a lamínula aderida firmemente à câmara. O preparado foi deixado repousar por dois minutos para sedimentação dos glóbulos. Em seguida, a preparação foi observada no microscópio para localizar a distribuição uniforme das hemácias. Com auxílio de uma lente de 400X, foi feita a contagem de todas os leucócitos encontradas nos quatro quadrados laterais do fundo da câmara de Neubauer.

Para se obter a quantidade de hemácias por mL de sangue, realizou-se o seguinte cálculo:

$$\text{Leucóitos } \mu/L = L.c. \times 10 \times 20 / 4$$

Onde L.c. é o número de células contadas; 10 corresponde à profundidade de 10mm dos espaço da câmara de Neubauer, 20 correspondente a proporção da diluição e 4 corresponde ao número de quadrados laterais utilizados na contagem.

### 3.2.6 Contagem diferenciada de Leucócitos

O método utilizado para contagem diferenciada de leucócitos foi realizada com amostras de sangue colhidas em tubo vacuolizado contendo fluoreto de sódio como

antiglicolítico e EDTA de potássio como anticoagulante (VACUETTE do Brasil, Campinas, SP, Brasil) nos tempos 0, 12 e 24h após o fornecimento do colostro.

A contagem foi realizada utilizando-se sangue sem centrifugação para a confecção do esfregaço sanguíneo, corado com corante de Wrieth e examinados ao microscópio com objetiva de imersão a óleo (100x). Em cada esfregaço sanguíneo foram diferenciados 100 leucócitos, classificados de acordo com suas características morfológicas e tintoriais em neutrófilos com núcleo segmentado, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos.

### **3.2.7 Análise Estatística**

Os dados foram analisados com o pacote STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Antes das análises propriamente ditas, os dados foram analisados em relação à presença de informações discrepantes (“outliers”) e normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk). Quando a premissa de normalidade não foi atendida, a transformação logarítmica ou pela raiz quadrada foi necessária.

Os dados foram analisados de acordo com o Proc Mixed para modelos mistos, tendo os Tempos de Coleta (0, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas) como medidas repetidas. Para as análises, dentre as 15 diferentes estruturas de covariância testadas, a que melhor se ajustou ao modelo estatístico foi escolhida baseado no menor valor do critério de informação Akaike corrigido (AICC) (WANG; GOONEWARDENE, 2004). O modelo incluiu efeitos fixos de Sexo (machos e fêmeas), Tempo de Amostragem e a interação dupla entre estes fatores, bem como a covariável Peso Inicial, Tempo para Colostragem e Massa de Colostro Ingerida até 12 horas. Efeito de Bloco (Fazendas ESALQ/USP e APTA) foi incluído no modelo como efeito aleatório. Adicionalmente, as comparações de médias entre os Tempos foram realizadas através do teste de Tukey ajustado. Para todos os teste realizados foi adotado o nível de significância de 5%.

## **3.3 Resultados e Discussão**

### **3.3.1 Produção de Colostro**

O colostro se manteve na faixa de boa qualidade, segundo os critérios de classificação pela concentração de Ig em g/L medida pelo colostrômetro (Tabela 3.1). Os

valores médios foram semelhantes ao encontrado por Baumrucker et al. (2014) de 93,4g/L, porém acima do que foi encontrado por Morin et al. (2001), que observaram concentração de IgG com média de 69 g/L. O leite de transição obtido na segunda ordenha também apresentou concentração de Ig dentro do limite para classificação como boa qualidade (>50 g/L), o que não aconteceu com o leite obtido na terceira ordenha pós-parto, o qual apresentou concentração de Ig dentro da escala de baixa qualidade conforme proposto por Fleenor e Stott (1980). Esta variação de densidade existente entre a primeira ordenha pós-parto e as ordenhas seguintes pode ser visto como o resultado da alteração na concentração de Ig, pois os outros componentes principais como lactose e albumina estão presentes em baixa quantidade na secreção obtida na primeira ordenha, apresentando baixo coeficiente de variação e não tendo portanto, grande influência na alteração da gravidade específica do colostro (FLEENOR; STOT, 1979).

Tabela 3.1 – Avaliação da produção e qualidade do colostro conforme ordenha

VARIÁVEL	Ordenha			EPM	P<	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>		Linear	Desvio
Produção (L)	4,13	2,60	1,54	0,432	0,0003	0,9468
Qualidade						
Colostrômetro (g/L)	90,00	50,00	25,71	6,073	0,0001	0,3573
Refratômetro (% Brix)	26,03	19,41	14,13	1,152	0,0001	0,6459
Produção total de IgG (g)	371,7	130,0	39,6	51,579	0,0065	0,7459

& Estimado através de leitura da densidade específica com colostrômetro, multiplicado pela produção

Outro fator que pode ter influenciado a diferença de densidade entre ordenhas, além da variação na concentração de Ig, está relacionado com o aumento do volume da secreção láctea e a redução da concentração dos componentes do colostro pelo efeito de diluição. Isto ocorre porque nesta fase a glândula mamária já está envolvida na transição da produção de colostro para o leite maduro, momento que é marcado pelo incremento do conteúdo de lactose, componente com alta osmolaridade responsável por desencadear um acréscimo de água à secreção

(BAUMRUCKER et al., 2014). Resultados semelhantes foram relatados por Sacerdote et al. (2013) que em análises feitas com o leite de transição de 2ª e 3ª ordenha, constataram que logo nas primeiras horas após o parto há um marcado decréscimo na concentração dos componentes característicos do colostro, como a Ig e transferrina. Estes autores observaram ainda que o peso seco do colostro produzido dentro das primeiras 5 horas após o parto foi superior ao peso seco do colostro ordenhado após as 24 horas. Quigley et al. (2013) observaram ainda que a concentração de IgG foi baixa quando o colostro foi ordenhado aproximadamente 8hs após o parto.

Conforme esperado, a avaliação de qualidade utilizando-se refratômetro digital de Brix também alcançou boa classificação, com porcentagem média acima do ponto de corte de 21% sugerido por Quigley et al. (2013) e acima de 21% e 22% como sugerido por Biemann et al. (2010) no caso da determinação da qualidade do colostro de vacas a partir da 2ª lactação. Seguindo os mesmos pontos de corte como critério de avaliação para o leite de transição, diferente do que foi obtido com o colostrômetro, os dados mostram que o leite obtido na segunda ordenha pós-parto não apresentou qualidade adequada para a transferência de imunidade em bezerros recém-nascidos (BIELMANN et al., 2010; QUIGLEY et al., 2013), assim como o leite obtido na terceira ordenha (Tabela 3.1). Quanto a avaliação da média da massa de Ig total produzida por ordenha (Tabela 3.1), esta revela que o volume total de colostro e do leite de transição da 2ª ordenha apresentaram concentração de Ig suficientes para promover adequada colostragem em bezerros recém-nascidos (OSAKA et al., 2014).

A partir destes dados, é possível inferir que os métodos indiretos de avaliação da qualidade do colostro podem resultar em erros na tomada de decisão, caso o volume de colostro fornecido não seja ajustado de forma que o neonato receba a dose adequada de Ig.

### **3.3.2 Parâmetros sanguíneos**

De acordo com o esperado, a concentração PT foi crescente nas primeiras horas de vida, logo após a ingestão de colostro (Figura 3.1). Como bezerros recém nascidos apresentam hipogamaglobulinemia, em razão do tipo de placenta dos ruminantes a qual impede a transferência durante a gestação, o aumento observado é dependente especificamente da absorção intestinal da proteína colostrálica ingerida

pelo bezerro, representada principalmente pela imunoglobulina (BRAUN et al., 1983; FAGLIARI et al., 1998; QUIGLEY, DREWRY, 1998; OSAKA et al., 2014).

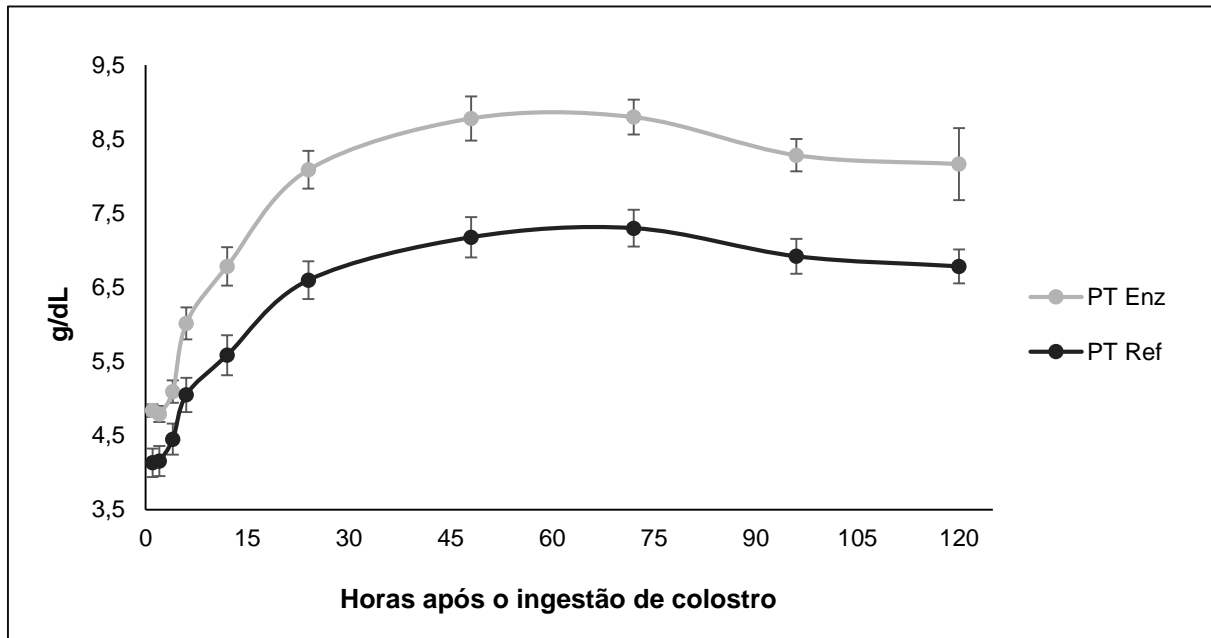


Figura 3.1 - Proteína total sérica de bezerros recém-nascidos determinada pelo método enzimático e pelo refratômetro óptico de proteína

Quanto a concentração da PT sérica avaliada pelo refratômetro e pelo método enzimático, foram obtidas médias de 7,18 g/dL  $\pm$ 0,26 e 8,78 g/dL  $\pm$ 0,25 respectivamente às 24 horas após o consumo de colostro. Estes valores sugerem que os animais envolvidos neste trabalho foram colostrados adequadamente, segundo o ponto de corte padrão (5,5 g/dL) para a PT, utilizado na avaliação da transferência de imunidade passiva (TIP) (TYLER et al., 1999). Valores semelhantes foram encontrados por Danielle et al. (1994) ao estudarem o efeito do fornecimento prolongado de colostro, os quais obtiveram média de 7,8 g/dL para este parâmetro.

A concentração máxima e a estabilização da concentração da PT sérica foram alcançadas entre as 24-48 horas após o consumo de colostro (Figura 3.1). Este período coincide aproximadamente com as 24 e 48 horas de idade dos animais, o qual é marcado pelo completo encerramento da absorção da proteína oriunda do colostro (ROY, 1990; DAVIS; DRACKLEY, 1998; GODDEN, 2008) e representa o tempo exigido para a absorção sistêmica e circulação dos anticorpos colostrais, até que estes apareçam no soro (VILLARROEL et al., 2013). Alguns trabalhos também mostram elevações na concentração deste parâmetro a partir do primeiro dia após o

nascimento (FAGLIARI et al., 1998) e permanência dos altos valores durante a 1ª semana de vida (RANPRICH; HAMMON; BLUM, 2000).

Após este período de estabilização, a concentração de PT permaneceu constante até o fim do período experimental (Figura 3.1), não sendo possível observar, quando e se, ocorre o declínio nos valores deste parâmetro, como foi constatado por Villarroel et al. (2013). Estes autores encontraram os valores mais altos para a PT e IgG no 2º e 3º dia de idade e um declínio significativo nos valores de PT sérica por volta da segunda semana, a partir da qual a concentração da PT permaneceu constante em 5,5 g/dL. Segundo Danielle et al. (1994) este decréscimo está ligado às atividades metabólicas de catabolismo dos anticorpos adquiridos passivamente do colostro, limitando a avaliação de TIP a primeira semana de vida dos animais. Considerando este aspecto, a análise de regressão de PT apresenta comportamento quadrático para ambos os métodos, o que sugere um tempo máximo após fornecimento de colostro para uma melhor avaliação da transferência de imunidade passiva de cerca de alimentação 12 - 24h pós-colostro. Sendo assim, é importante a consideração da idade na avaliação da TIP, uma vez que cerca de 59% da variação da PT no plasma é devido a algo diferente IgG e que a relação entre PT e Ig declina com o avançar da idade do animal (HANCOCK et al., 1985).

Quanto a comparação entre método enzimático e o refratômetro na determinação da concentração da PT, a concentração deste parâmetro diferiu entre ambos ( $P < 0,05$ ). A estimativa da concentração de proteína total pelo método enzimático foi maior que os valores determinados pelo refratômetro óptico de proteína, como mostrado pelo maior valor de intercepto nas equação de predição linear e quadrática.



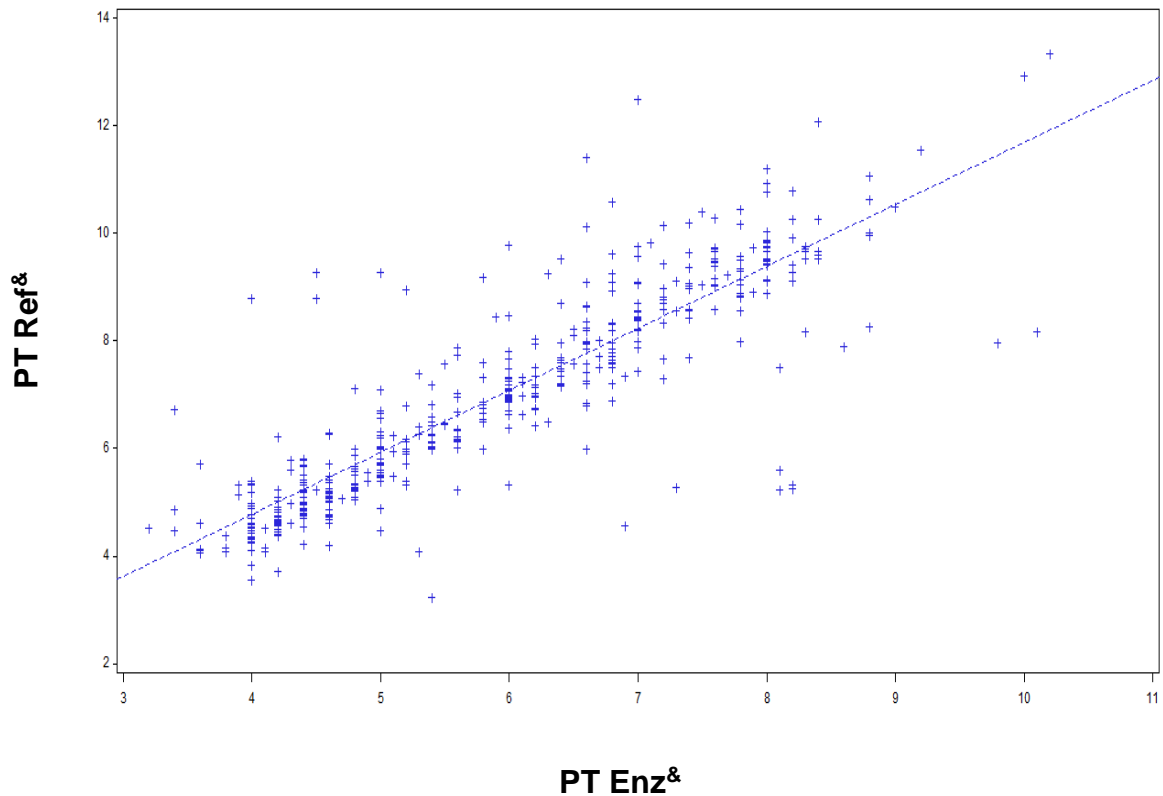


Figura 3.2 - Correlação entre métodos de determinação de proteína sérica total de bezerros neonatos  
 &TPref: PTPref determinada pelo refratômetro óptico de proteína; TPEnz: PT determinada pelo método enzimático

A diferença observada não invalida a utilização do refratômetro, pois a variação da concentração deste parâmetro apresentou comportamento semelhante e alta correlação positiva ( $r = 0,75$ ;  $P < 0,05$ ) entre os dois métodos (Figura 3.2), como mostra a equação de regressão apresentada na Tabela 3.2. Os valores recomendados de concentração de proteína sérica variam de 5,0 a 6,0 g/dL. Segundo Carstairs-Grant et al. (2015), a precisão geral do refratômetro para medição de proteína total é de 92,7%. Este método de determinação de proteína total, tem sido reportado por Calloway et al. (2002) como adequado para a determinação da transferência de imunidade, isto quando são considerados valores abaixo de 5,0 ou 5,2 g/dl como determinantes de falha na transferência de imunidade passiva. Já Tyler et al. (1996) afirmam que quando o ponto de corte utilizado é igual a 5,5 g/dL, na estimativa da proteína, é obtida uma alta porcentagem (82,32%) de correta classificação para a transferência de imunidade passiva.

Tabela 3.2 - Equações de regressão para estimativa de albumina, PT Ref, PT Enz e correlação entre PT Ref e PT Enz

<b>Equações de Predição</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P &lt;</b>
Albumina = 2,32 – 0,00038 T	0,0009	0,4970
Albumina = 2,39783 – 0,00951T + 0.00008507 T <sup>2</sup>	0,0418	0,0001
PTref <sup>&amp;</sup> = 5,304999 + 0,01931 T	0,2876	0,0001
PTref = 4,79507 + 0,08244 T – 0,00058577 T <sup>2</sup>	0,5176	0,0001
PTenz = 6,13537 + 0,02468 T]	0,2486	0,0001
PTenz = 5,53535 + 0,10027 T – 0,00070451 T <sup>2</sup>	0,4233	0,0001
PTenz = 0,1662 + 1,1517 PTref	0,7518	0,0001

&TPref: PT determinada pelo refratômetro óptico de proteína; TPenz: PT determinada pelo método enzimático

Não houve diferença entre os sexos ( $P < 0,05$ ) na concentração da PT nos horários de amostragem, tanto para o método de determinação enzimático quanto para o refratômetro. De forma semelhante, Silper et al. (2012) não encontraram diferenças entre sexo na concentração sérica de PT ao 3º dia de vida. Outros autores descrevem que o sexo do bezerro é um dos fatores que exercem influência na concentração plasmática de Ig, e conseqüentemente na PT, o que está relacionado com a diferença no peso corporal e as taxas metabólicas. No presente trabalho não houve diferença ( $P < 0,05$ ) de peso entre machos e fêmeas (Tabela 3.3), o que justifica a falta de efeito de sexo para a concentração de PT.

Tabela 3.3 - Comparação de peso (Kg) de bezerros recém-nascidos por sexo

<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>	<b>Média</b>	<b>EPM</b>	<b>P &lt;</b>
30,06	32,57	31,20	1,020	0,7954

As concentrações médias de albumina estão dentro dos padrões da espécie na fase de vida estudada (ADAMS, 1992), com valores decrescentes após a ingestão de colostro (Figura 3.5), apresentando a média mais alta na 0 hora (2,56 g/dL  $\pm 0,07$ ) e a menor às 12 horas após o consumo da primeira refeição (2,02 g/dL  $\pm 0,07$ ). Estes dados são semelhante ao que foi observado por Ranprich, Hammon e Blun (2000), que também observaram queda na concentração de albumina após a primeira

refeição e por Hadorn et al. (1997) que registraram o mesmo perfil de variação após a 1ª e a 2ª refeição.

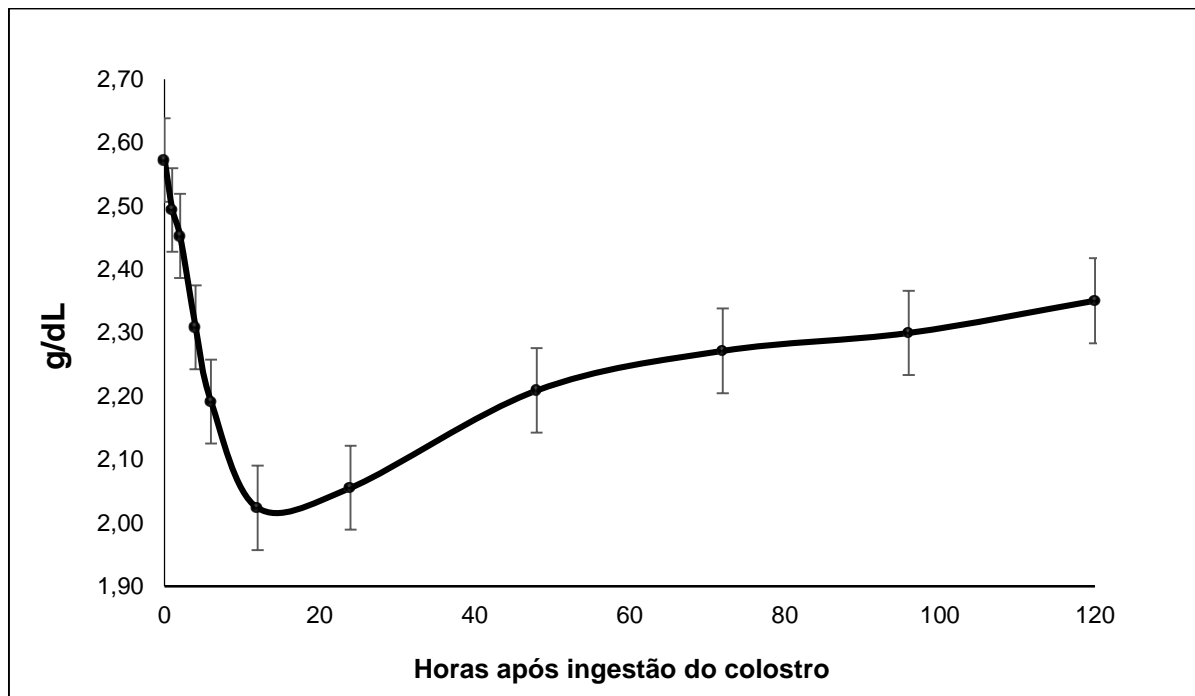


Figura 3.5 - Albumina sérica de bezerras recém-nascidos antes a após ingestão de colostro

A partir do padrão de variação apresentado pela PT, é possível inferir que a diferença na concentração de albumina observada entre os horários de colheita, deve-se exclusivamente à absorção intestinal da imunoglobulina proveniente do colostro. Este componente proteico, considerado a fração proteica mais expressiva em bezerras recém-nascidos antes da ingestão do colostro (DANIELLE et al., 1994), apresenta caráter pouco variável nesta fase (FEITOSA et al., 2001). Assim, a variação decrescente das médias observadas nas primeiras 12 horas após o consumo do colostro não expressam o valor absoluto para a concentração de albumina, mas sim o resultado da expansão do volume plasmático decorrente da ingestão de colostro e da metabolização do mesmo nas primeiras horas de vida (HOPKINS; QUIGLEY, 1996; FEITOSA et al., 2001).

Quando comparada por sexo, a concentração de albumina foi diferente ( $P < 0,05$ ) apenas às 120 horas após o consumo de colostro (Figura 3.6), horário que corresponde a aproximadamente às 120 horas de idade, diferença que pode estar relacionada à particularidades metabólicas de cada gênero.

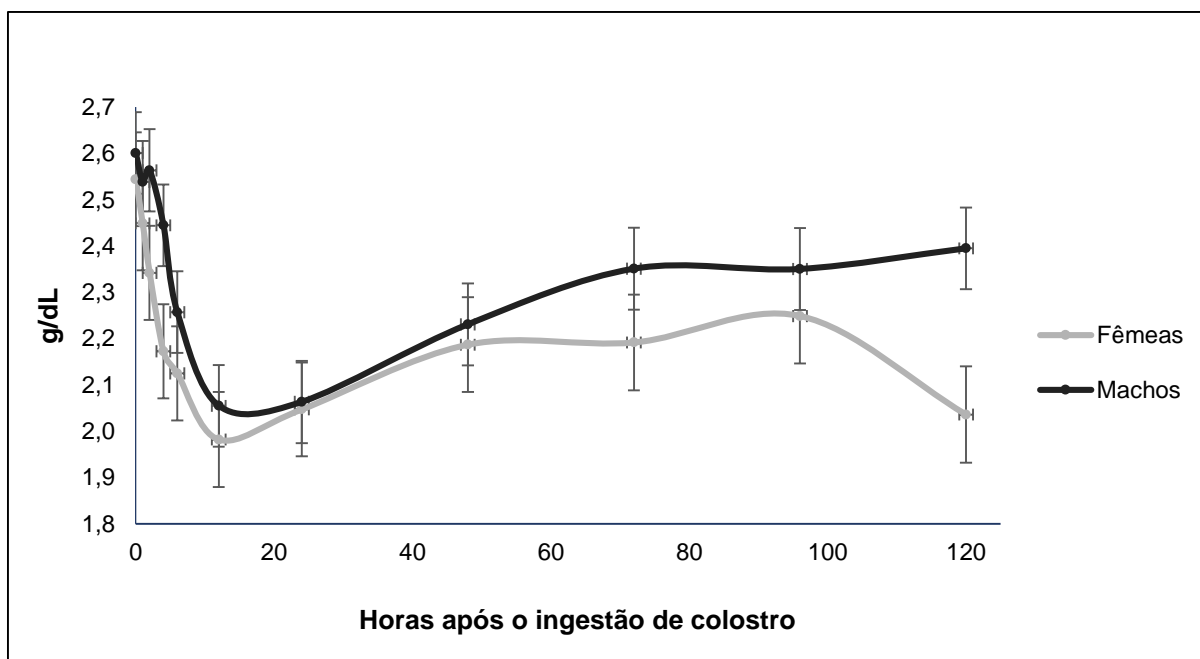


Figura 3.6 - Albumina sérica de bezerras recém-nascidos antes a após ingestão de colostro diferenciada por sexo

O fator hidratação não interferiu nos resultados da avaliação da TIP através da PT, uma vez que os animais apresentaram % de hematócrito (Figura 3.7) dentro dos padrões esperados para a espécie nesta fase (ADAMS et al., 1992). A porcentagem de sólidos no plasma sanguíneo alcançou o pico de concentração entre a 1ª e a 2ª hora após o consumo de colostro (Figura 3.7), momento em que também foi registrado o aumento na contração de PT (Figura 1). Estas alterações observadas nos primeiros horários de colheita podem expressar o incremento de sólidos no conteúdo plasmático decorrente da ingestão de colostro e da metabolização do mesmo, logo nas primeiras horas de vida (HOPKINS; QUIGLEY, 1996). Após a máxima concentração registrada houve um decréscimo na porcentagem de sólidos (Figura 3.7), provavelmente como resultado do efeito da pressão osmótica exercida pelas frações proteicas no plasma, pois, nota-se que ainda há incremento na concentração de PT (Figura 3.1) depois do pico de concentração de sólidos identificado pelo hematócrito. Estas alterações obedecem à dinâmica dos líquidos do gradiente de concentração, o que está associado a representatividade osmótica da fração proteica no plasma (GARCIA-NAVARRO, 2005).

Quanto aos horários de colheita não foram observadas diferenças ( $P < 0,05$ ) para os valores de hematócrito entre os horários de colheita de sangue, devido ao alto erro padrão da média para cada horário de avaliação; sendo observadas no entanto

diferenças ( $P < 0,05$ ) entre sexo para todos os horários de colheita de sangue (Figura 3.8).

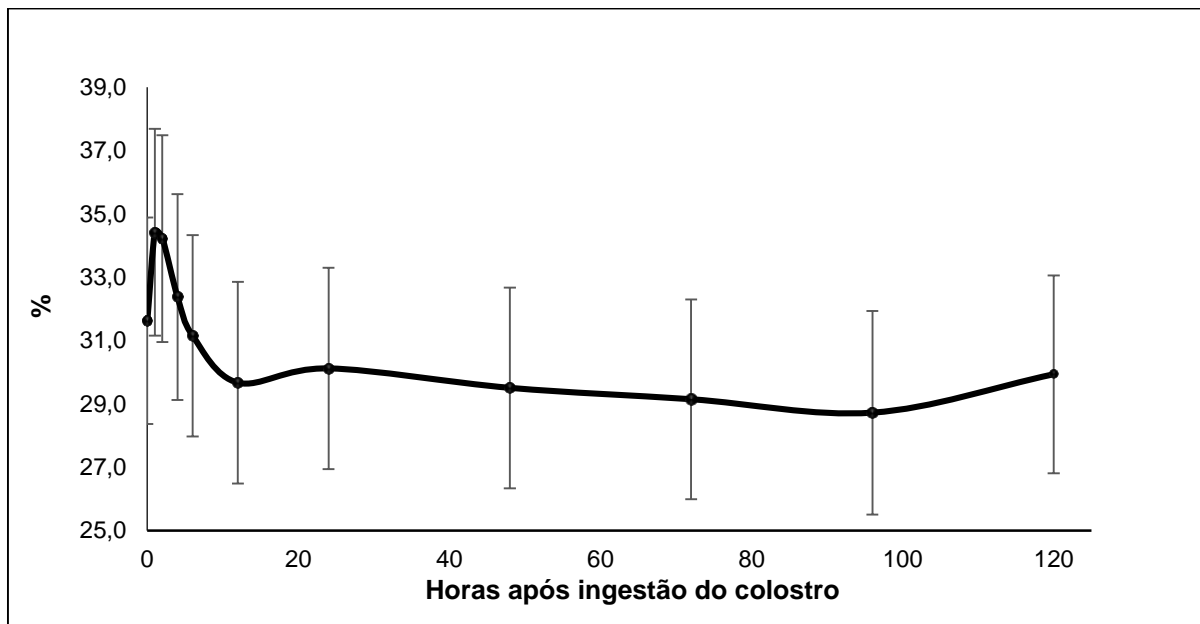


Figura 3.7 - Hematócrito de bezerros recém-nascidos antes e após a ingestão do colostro

Quando comparado por sexo, o hematócrito foi semelhante apenas às 120 horas após o consumo de colostro (Figura 3.6), horário que corresponde a aproximadamente às 120 horas de idade.

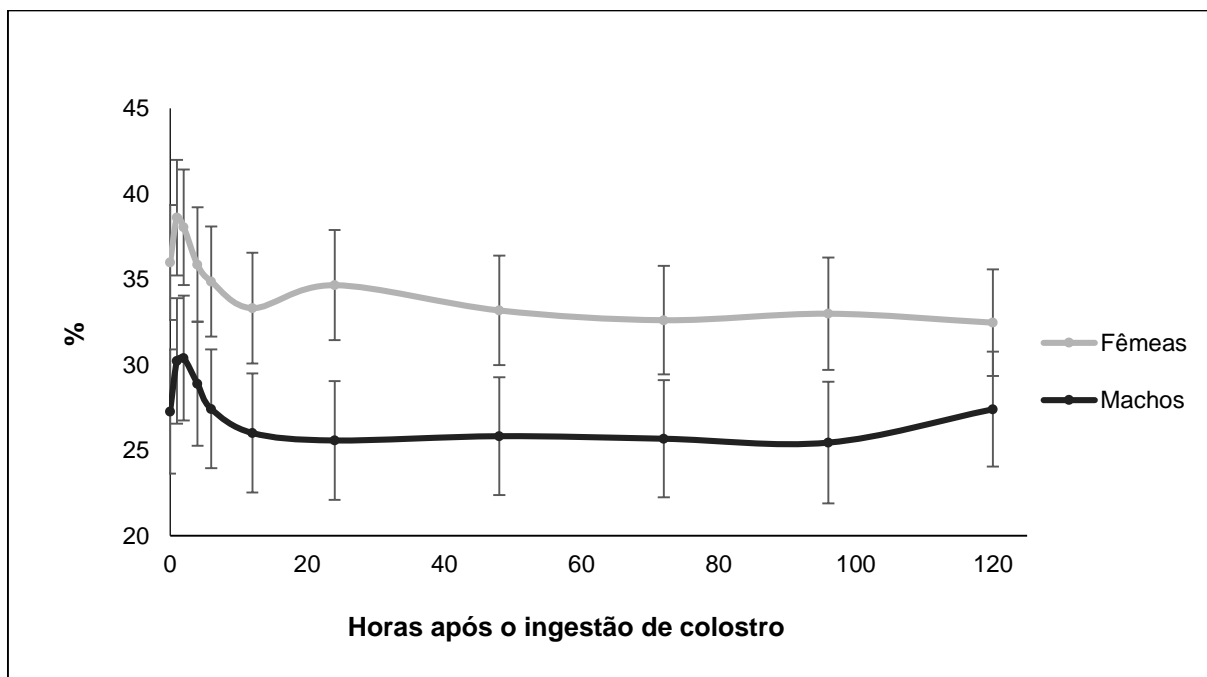


Figura 3.8 - Hematócrito de bezerros recém nascidos antes e após a ingestão do colostro diferenciado por sexo

O hematócrito é um parâmetro que tem as medidas variáveis de acordo com o status de hidratação do indivíduo, o que provoca uma substancial alteração na concentração da proteína sérica (TYLER et al., 1996). A relação existente entre a determinação do hematócrito quanto ao uso do refratômetro é justificada pelo fato de que a desidratação pode causar proporcional aumento na concentração da proteína sérica, criando um potencial erro na classificação pelo aumento da proporção do teste falso-positivo para adequada transferência passiva (TYLER et al., 1999). Este foi um fator descrito por autores como uma possível dificuldade de avaliação na TIP (FEITOSA et al., 2001; VILLARROEL et al., 2013). A literatura ressalta a necessidade da utilização de uma análise de regressão para correção do efeito de desidratação da PT e concentração de IgG no soro de bezerros para adequada avaliação da transferência de imunidade passiva, fator que não interferiu neste experimento pelo fato de não existir diferença ( $P < 0,05$ ) entre os horários de colheita.

### **3.3.3 Eritograma e Leucograma**

A contagem global de eritrócitos foi maior ao nascer (hora 0) em comparação com os horários 12 e 24 horas ( $P > 0,05$ ) após o consumo do colostro, não havendo diferença entre 12 e 24 horas (Tabela 3.4). Outros autores também observaram altas contagens de eritrócitos ao nascer, seguida de redução (FAGLIARI et al., 1998; RENGIFO et al., 2010). Rengifo et al. (2010) relataram maiores valores para hematimetria ao nascimento, com decréscimo entre o 5º e o 15º dia.

Tabela 3.4 – Contagem global das séries branca e vermelha e média proporcional para leucograma de bezerros recém-nascidos antes e após a ingestão de colostro

Série	Horário			P<	
	0h	12hs	24hs	Linear	Desvio
Hematócrito %	31,63 ±3,25	29,67 ±3,18	30,12 ±3,18	0,1919	0,3313
VGM $\mu\text{m}^3$	52,0 ±0,22	53,4 ±0,19	52,9 ±0,11	0,0590	0,1040
Eri ( $10^6$ ) / $\mu\text{L}$	6,43 <sub>a</sub> ±0,91	5,51 <sub>b</sub> ±0,88	5,67 <sub>b</sub> ±0,88	0,0114	0,0106
Leu ( $10^3$ ) / $\mu\text{L}$	8,73 <sub>b</sub> ±1,63	12,95 <sub>a</sub> ±2,14	8,95 <sub>b</sub> ±1,58	0,3755	0,0013
Eosinófilo %	3,63 ±1,54	5,04 ±1,71	4,30 ±1,61	0,3962	0,1620
Basófilo %	1,02 ±0,26	1,01 ±0,23	1,73 ±0,38	0,1546	0,4374
Linfócito %	43,30 ±2,73	42,93 ±2,83	47,85 ±3,06	0,1477	0,3704
Monócito %	13,85 ±1,58	14,32 ±1,55	14,20 ±1,59	0,7982	0,7868
Neutrófilos					
Bastonete %	2,30 <sub>b</sub> ±0,30	2,90 <sub>a</sub> ±0,47	2,51 <sub>a</sub> ±0,34	0,5471	0,2561
Segmentado %	34,31 <sub>a</sub> ±2,39	32,62 <sub>ab</sub> ±2,20	28,10 <sub>b</sub> ±2,20	0,0383	0,5651

VGM = volume globular médio; Eri = eritrócitos / $\mu\text{L}$  de sangue; Leu = Leucócitos / $\mu\text{L}$  de sangue

Esta redução na contagem de eritrócitos a partir do nascimento pode estar relacionada com a expansão do volume plasmático após a ingestão do colostro (ROCHA et al., 2012), uma vez que o comportamento do hematócrito (Figura 3.7) evidencia uma redução no conteúdo de sólidos presentes no sangue dos animais envolvidos neste experimento nas primeiras horas após a primeira refeição. Os resultados obtidos por Adams et al. (1992) mostram uma redução no número de células vermelhas e hemoglobina entre o parto e as primeiras 24 horas de idade, assim como o hematócrito que também apresentou valores reduzidos entre 24 e 48 horas de idade, quando comparados com valores no momento do nascimento.

O volume globular médio (VGM) não apresentou diferença de contagem entre os horários de colheita, com valores que indicam que os animais estavam dentro da faixa de normocitose (GARCIA-NAVARRO, 2005). Este resultado pode ser sustentado pelos valores de hematócrito, uma vez que o resultado do VGM é dependente deste parâmetro, e quando analisados conjuntamente mostram não haver diferença entre horário para a concentração de sólidos no sangue dos animais.

A contagem de leucócitos foi maior às 12 horas após o consumo do colostro, em comparação com os horários 0 e 24 horas ( $P < 0,05$ ), coincidindo com o momento de início de queda na eficiência de absorção de macromoléculas (OSAKA et al., 2014). Considerando a alta concentração de leucócitos observada no colostro bovino (GOMES et al., 2011) e que neste trabalho 52,2% dos bezerros foram colostrados com colostro fresco, provavelmente estes fatores foram determinantes na variação da contagem de leucócitos viáveis encontrados no leucograma dos animais. O comportamento deste parâmetro corrobora com os resultados obtidos por Benessi et al. (2012) que mostram a flutuação da contagem total de leucócitos dentro de 8 horas após o parto, com destaque para as classes de segmentados e neutrófilos. A técnica de microscopia direta utilizada por Gomes et al. (2011) permitiu a observação de todos os tipos de leucócitos no colostro bovino, com exceção dos basófilos, sendo os leucócitos mononucleares as células predominantes. Ainda na glândula mamária, os linfócitos B são capazes de diferenciação dentro dos plasmócitos, sendo a síntese local de anticorpos, o produto desta diferenciação que pode continuar este processo como células funcionais quando absorvidos através do colostro pelo neonato (LARSON; HEARY; DEVERY, 1980). Isto indica que além de ser a principal fonte de anticorpos, o colostro pode desempenhar também o papel de fonte de anticorpos. Representados pelos leucócitos em sua maioria, estas células podem resistir no trato intestinal de bezerros devido à falta de protease durante as primeiras horas de idade, bem como a presença de inibidores como o inibidor de tripsina (TIZARD, 2008). Quanto a contagem diferenciada, não houve diferença de médias proporcionais para as classes de eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos ( $P < 0,05$ ), mas houve diferença para a classe de bastonete ao nascer ( $P < 0,05$ ), sendo maior com 12 horas e 24 horas (Tabela 3.4). Por outro lado, a contagem de segmentados apresentou diferença nas 24 horas após o consumo de colostro, não havendo diferenças com a contagem de 12 horas. Apesar da variação encontrada para estas classes, os valores apresentam-se dentro dos padrões estabelecidos para a espécie (GARCIA-NAVARRO, 2005), variação com o mesmo comportamento apresentado pela contagem total de leucócitos. Estes resultados sugerem que estas células tenham origem colostrada, pois estes tipos de leucócitos caracterizam um nível de maturação celular que exige um tempo maior que o período abrangido pela avaliação feita neste trabalho (TIZARD, 2008). Mas ainda assim, os resultados de contagem apresentam-



se dentro dos padrões sugeridos para a espécie trabalhada (GARCIA-NAVARRO, 2005).

Assim, o fornecimento de colostro fresco, além de permitir a absorção de imunoglobulinas e nutrientes, permite a absorção de células da série branca, que podem auxiliar na imunidade do bezerro recém-nascido.

### **3.3.4 Concentração Enzimática**

A gama-glutamil transferase (GGT) apresentou variação crescente, com a menor média ( $25,38 \pm 10,38$  U/L) antes da ingestão do colostro e máxima concentração em aproximadamente 6hs após a ingestão do colostro ( $821,30 \pm 55,89$  U/L). Estes dados são semelhantes aos observados por Feitosa et al. (2001) ao avaliarem a concentração de GGT em bezerros com 24 horas de idade, os quais apresentaram média de 840,55 U/L. Braun et al. (1983) observaram baixas concentrações de GGT em bezerros logo ao nascer, as quais aumentaram rapidamente no 1º dia de vida até alcançar a pico de concentração entre o 1º e o 2º dia de idade.

O pico de concentração de GGT ocorreu por volta das 6h de idade, decrescendo no período subsequente até o valor de  $535,39 \pm 44,08$  U/L nas 120hs após o consumo de colostro (Figura 3.9). A redução na concentração de GGT seguida do pico as 6 horas após o consumo de colostro pode estar relacionado com o aumento do volume plasmático. O aumento seguinte ocorre no período correspondente à ingestão do leite de transição, que poderia conter certa concentração de GGT que possivelmente foi disponibilizada à corrente sanguínea dos animais.

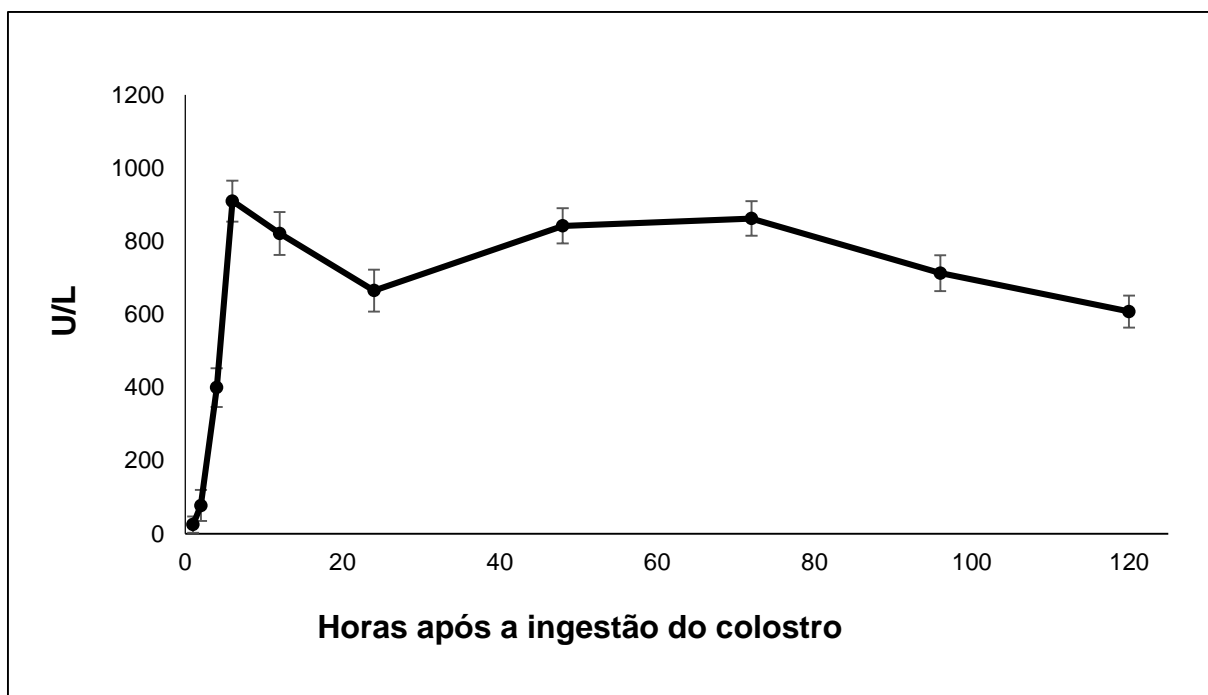


Figura 3.9 - Concentração de GGT em bezerros recém-nascidos antes e após o consumo de colostro

O comportamento e as médias da concentração de GGT não diferiram entre fêmeas e machos durante o período mais crítico de absorção de macromoléculas, compreendido entre o nascimento e as 6 horas de idade (Figura 3.10). No entanto, na avaliação às 12 horas após o consumo de colostro, a concentração de GGT foi superior para bezerros machos. Este resultado não tem justificativa aparente, pois como mencionado anteriormente, não houve diferença de peso corporal entre machos e fêmeas, o que poderia ser um fator diferencial na taxa metabólica.

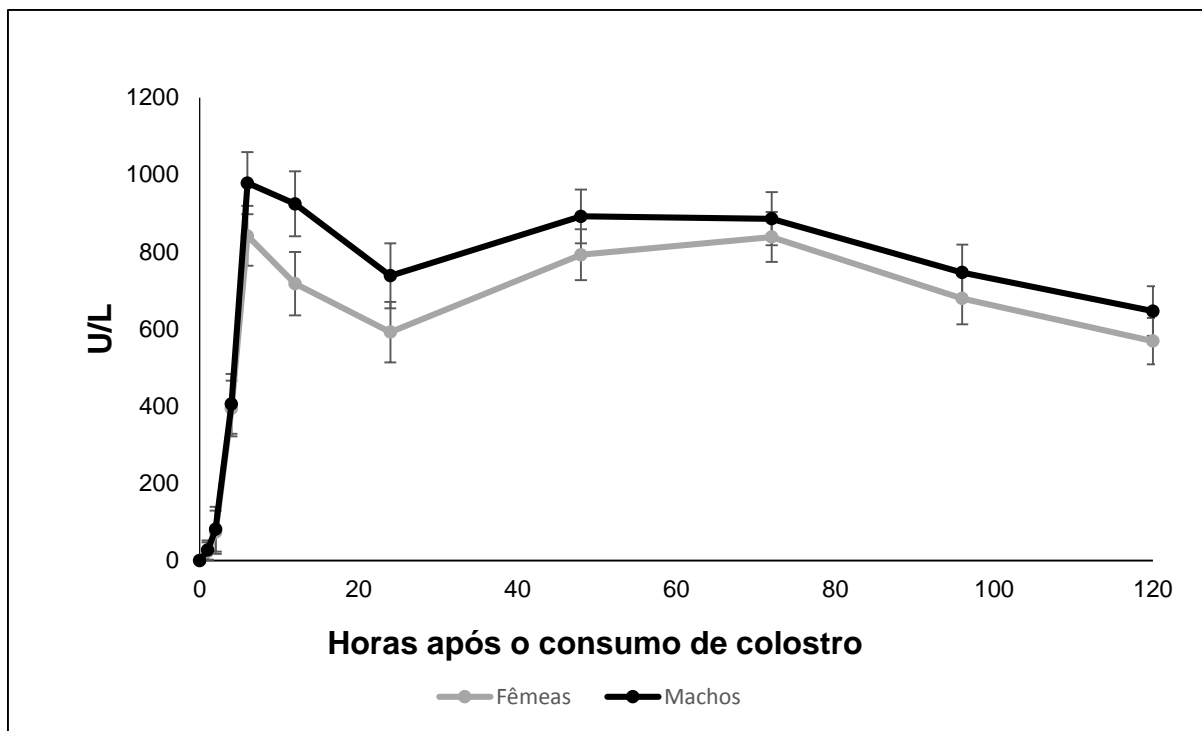


Figura 3.10 - Concentração da GGT em bezerras neonatas antes e após o consumo de colostro de acordo com o sexo do bezerro

Assim como a GGT, a concentração de fosfatase alcalina também foi crescente até as 6hs após a ingestão do colostro, variando de uma concentração mínima de  $134,39 \pm 18,17$  U/L até alcançar a máxima concentração de  $276,52 \pm 21,93$  U/L no soro dos animais. Em seguida do pico nas 6 horas após o consumo de colostro, houve decréscimo nas concentrações de fosfatase alcalina, até que a estabilidade foi alcançada por volta das 48 horas após a ingestão do colostro, com média igual a  $205,14 \pm 18,19$  U/L, o que pode ser visto pelo menor erro padrão da média a partir deste ponto.

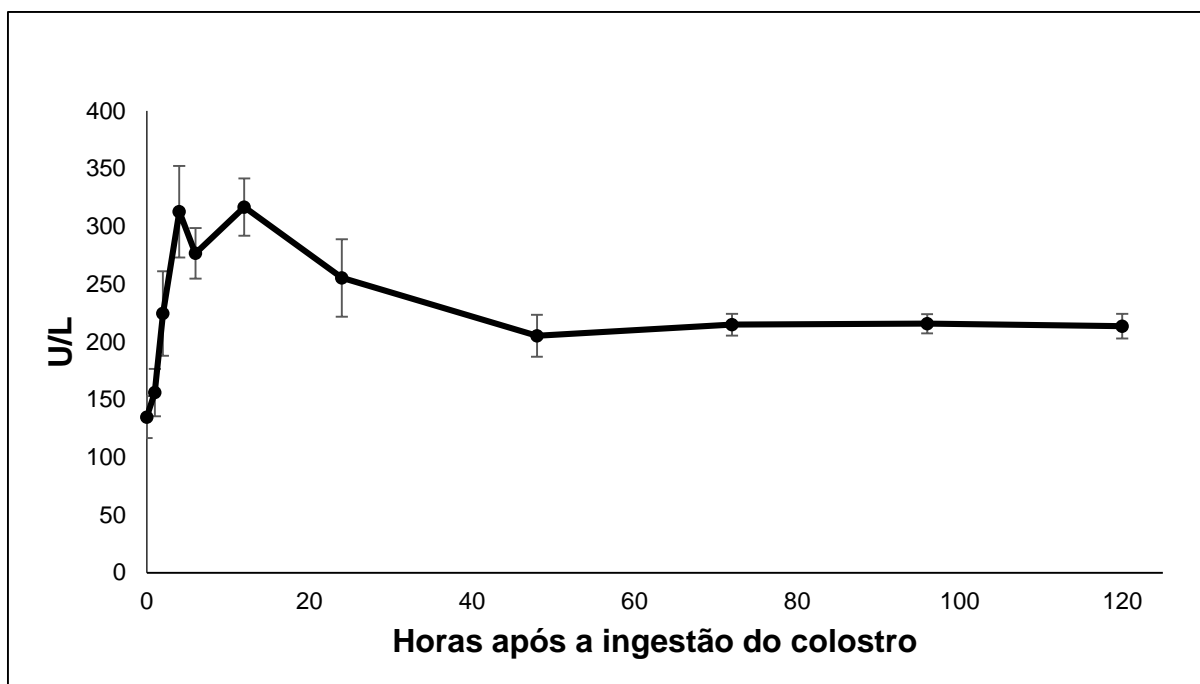


Figura 3.11 - Concentração da fosfatase alcalina em bezerros recém-nascidos antes e após o consumo de colostro

Assim como observado para a concentração de GGT houve diferença na concentração de fosfatase alcalina entre machos e fêmeas somente após o pico de concentração ( $P < 0,05$ ).

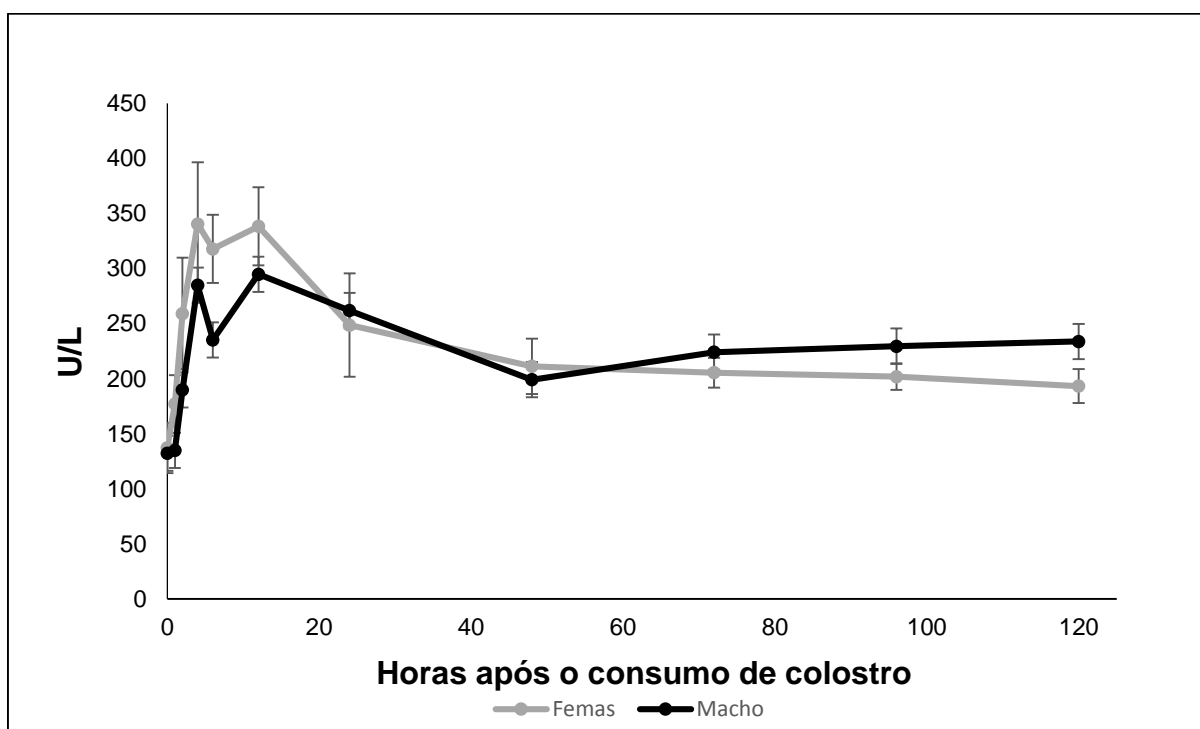


Figura 3.12 - Concentração da fosfatase alcalina em bezerros recém-nascidos antes e após o consumo de colostro diferenciada por sexo

O comportamento apresentado pelas concentrações das enzimas gama-glutamil transferase e fosfatase alcalina, aparentemente se relacionam com a ingestão do colostro (BRAUN et al., 1983), visto que o pico de concentração coincide com o momento de maior absorção de macromoléculas em bezerros recém-nascidos (OSAKA et al., 2014).

Estes resultados corroboram com os observados por Rocha et al. (2012) que constataram que a atividade da fosfatase alcalina e da GGT foram altas após a ingestão do colostro, sugerindo a absorção das mesmas por estarem presentes no colostro. Os autores observaram aumentos nas concentrações entre 2 a 1,5 vezes dos valores de referência para animais adultos.

Zanker, Hammon e Blun (2001), também observaram que após a ingestão do 1º e do 2º colostro, as concentrações de GGT e fosfatase alcalina foram maiores. Estes autores observaram ainda que a maior atividade das enzimas GGT e fosfatase alcalina foram registradas para bezerros alimentados com o 1º colostro entre 0 - 6 horas após o nascimento quando comparado com animais alimentados entre as 12 - 24 horas após o parto. Esta maior concentração de enzimas observada quando os animais foram alimentados com colostro em um menor tempo após o nascimento, em comparação com 12-14 horas depois, se deve ao fato de que este é o período de maior eficiência de absorção de macromoléculas, o que permitiu, além da absorção de antibióticos e imunoglobulinas, a absorção das enzimas presentes no colostro (OSAKA et al., 2014).

A correlação positiva entre a GGT e a fosfatase alcalina no 1º dia de vida, e também destas duas enzimas com as imunoglobulinas (FIAGLIRI et al., 1996), permite a utilização da concentração destas enzimas na avaliação do status de colostragem do bezerro (BRAUN et al., 1983; SLOSARKOVA et al., 2014).

### **3.4 Conclusão**

Os protocolos de colostragem devem considerar, além da qualidade do colostro, o fornecimento de uma massa de Ig suficiente para garantir uma adequada transferência de imunidade. A avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos deve ser realizada por volta das 24 horas após a ingestão do colostro, considerando uma colostragem realizada entre 0,5 e 3 horas após o nascimento, pois neste momento a absorção de macromoléculas colostrais já está

encerrada e a proteína total alcança estabilidade. A partir deste período, não é possível determinar se as frações proteicas avaliadas são de origem colostrar ou endógena, o que não garante a avaliação segura sobre a transferência de imunidade passiva.

## Referências

- ADAMS, R.; GARRY, F.B.; ALDRIDGE, B.M.; HOLLAND, M.D.; ODDE, K.G. Hematologic values in newborn calves. **American Journal Veterinary Research**, Philadelphia, v. 53, p. 945-950, 1992.
- BAUMRUCKER, C.R.; STARK, A.; WELLNITZ, O.; DECHOW, C.; BRUCKMAIER, R.M. Short communication: Immunoglobulin variation in quarter-milked colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, p. 3700–3706, 2014.
- BENESI, F.J.; TEIXEIRA, C.M.C.; LISBOA, J.A.N.; LEAL, M.L.R.; BIRGEL JÚNIOR, E.H.; BOHLAND, E.; MIRANDOLA, R.M.S. Eritrograma de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 357–360, 2012.
- BIELMANN, V.; GILLAN, J.; PERKINS, N.R.; SKIDMORE, A.L.; GODDEN, S.; LESLIE, K.E. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 3713–3721, 2010.
- BRAUN, J.P.; BENARD, P.; BURGAT, V.; RICO, A.G. Gamma glutamyl transferase in domestic animals. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 6, p. 77–90, 1983.
- CALLOWAY, D.C.; TYLER, J.W.; TESSMAN, R.K.; HOSTETLER, D.; HOLLIE, J. Comparison of refractometers, test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. **Journal Animal Veterinary Medicine Association**, Boston, v. 221, p. 1605–1608, 2002.
- CARSTAIRS-GRANT, S.J.; CRAWSHAW, G.J.; MEHREN, K.G. A comparison of the glutaraldehyde coagulation test, total serum protein estimation as indicators of gamma globulin levels in neonatal ruminants. **The Journal of Zoo Animal Medicine**, Philadelphia, v. 19, p. 14-17, 1988.
- DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. 339 p.
- FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; LUCAS, F.A. CAMPOS FILHO, E.; CURI, P.R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, p. 263-271, 1998.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; MIROLA, R.M.S.; PERRI, S.H.V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 251-255, 2001.

FLEENOR, W.A.; STOTT, G.H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p. 974-977, 1980.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de hematologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2005. 206 p.

GODDEN, S. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, Amsterdam, v. 24, p. 19-38, 2008.

GOMES, V.; MADUREIRA, K.M.; LIBERA, A.M.M.P.D.; BLAGITZ, M.G.; ALVES, M.; BAPTISTELLA, F.; BENESI, F.J. Dinâmica da celularidade do colostro de vacas da raça Holandesa no pós-parto imediato. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, p. 1047-1053, 2011.

HADORN, U.; HAMMON, H.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Delaying colostrum intake by one day has important effects on metabolic traits and on gastrointestinal and metabolic hormones in neonatal calves. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 127, p. 2011-2023, 1997.

HANCOCK, D.D. Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, p. 163-183, 1985.

LARSON, B.K.; HEARY, H.K.; DEVERY, J.E. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, p. 377-380, 1980.

MORIN, D.E.; CONSTABLE, P.D.; MAUNSELL, F.P.; McCOY, G.C. Factores associated with colostrum specific gravity in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 937-943, 2001.

OSAKA, Y.M.; TERADA, F.J. Effect of the mass of immunoglobulin (Ig) G intake and age at first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, p. 6608–6612, 2014.

QUIGLEY, J.D.; DREWRY, J.J. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre and post calving. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 2779-2790, 1998.

QUIGLEY, J.D.; LAGO, A.; CHAPMAN, C.; ERICKSON, P.; POLO. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, p. 1148-1155, 2013.

- RAUPRICH, A.B.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Influence of feeding different amounts of first colostrum on metabolic, endocrine, and health status and on growth performance in neonatal calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 896-908, 2000.
- RENGIFO, S.A.; SILVA, R.A.; BOTTEON, R.C.C.M. Hemograma e bioquímica sérica auxiliar em bezerros mestiços neonatos e ocorrência de enfermidades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, p. 993-997, 2010.
- ROCHA, T.G.; NOCITI, R.P.; SAMPAIO, A.A.M.; FAGLIARI, A.J.J. Passive immunity transfer and sérum constituents of crossbred calves. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, p. 515-522, 2012.
- ROY, J.H.B. **The calf: management of health**. 5<sup>th</sup> ed. Boston: Butterworth, 1990. 258 p.
- SACERDOTE, P.; MUSSANO, F.; FRANCHI, S.; PANERAI, A.E.; BUSSOLATI, G.; CAROSSA, S.; BARTORELLI, A.; BUSSOLATI, B. Biological components in a standardized derivative of bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, p. 1745-1754, 2013.
- SILPER, B.F.; COELHO, S.G.; MADEIRA, M.M.F.; RUAS, J.R.M.; LANA, A.M.Q.; REIS, R.B.; SATURNINO, H.M. Avaliação da qualidade do colostro e transferência de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, p. 281-285, 2012.
- SLOSARKOVA, S.; FLEISCHER, P.; PENKAVA, O.; SKRIVANEK, M. The assessment of colostrum immunity in dairy calves based on serum biochemical indicators and their relationship. **Acta Veterinaria**, Brno, v. 83, p. 151-156, 2014.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT: guide of personal computers**; version 9.2. Cary, 2008.
- TIZARD I.R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 8. ed. São Paulo: Roca, 2008. 532 p.
- TYLER, J.W.; PARISH, S.M.; BESSER, T.E.; VAN METRE, D.C.; BARRINGTON, G.M.; MIDDLETON, J.R. Detection of low serum immunoglobulin concentrations in clinically ill calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Melbourne, v. 13, p. 40-43, 1999.
- TYLER, J.W.; HANCOCK, D.D.; PARISH, S.M.; REA, D.E.; BESSER, T.E.; SANDERS, S.G.; WILSON, L.K. Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Melbourne, v.10, p. 304-307, 1996.
- WANG, L.A.; GOONEWARDENE, Z. The use of MIXED models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 84, p. 1-11, 2004.



VILLARROEL, A.; MILLER, T.B.; JOHNSON, E.D.; NOYES, K.R.; WARD, J.K. Factors affecting serum total protein and immunoglobulin g concentration in replacement dairy calves. **Advances in Dairy Research**, Los Angeles, v. 1, p. 106, 2013.





ZANKER, I.A.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Activities of  $\gamma$ -glutamyl transferase, alkaline phosphatase, aspartate-aminotransferase in colostrum, milk, blood plasma of calves fed first colostrum at 0 $\pm$ 2, 6 $\pm$ 7, 12 $\pm$ 13, 24 $\pm$ 25 h after birth. **Journal of Veterinary Medicine Association, Physiology and Pathology Clinical Medicine**, Berlin, v. 48, p.179-185, 2001.

## **ANEXOS**



## Anexo

## FOLHA DE ESCORE DE VITALIDADE DO BEZERRO

APARÊNCIA DO ANIMAL				
1. Coloração do Mecônio	Normal: sem manchas	Razoável: em torno da área anal e caudal	Moderado: estende-se pelo corpo	Severo: completamente coberto
	0	1	2	3
2. Língua / cabeça	Normal (sem inchaço, língua para dentro)	Língua para fora mas sem inchaço	Língua para fora e inchada	Cabeça e língua inchada, e língua para fora
	0	1	2	3
INÍCIO DE MOVIMENTOS				
	Leva em torno de:			
3. Movimentos do bezerro	0 - 30 min. Se levantar/ caminhar	30 min - 1,5 hr Tentativas para se levantar	1,5 hr - 3 hr Decúbito esternal	> 3 hr De lado, sem esforço para levantar
	0	1	2	3
RESPOSTAS GERAIS				
4. Balançar a cabeça em resposta a um estímulo na cavidade nasal	Balança a cabeça com força	Desvia a cabeça	Contraí ou recua	Não faz nada
	0	1	2	3
5. Beliscar a língua	Tira a língua rapidamente	Demora pra tirar a língua	Contraí a língua	Não faz nada
	0	1	2	3
6. Reflexo do olho (em resposta ao tocar o globo ocular)	Pisca e fecha os olhos rapidamente	Demora para piscar	Não faz nada	
	0	1	2	
OXIGENAÇÃO				
7. Coloração da mucosa	Rosa vivo	Rosa claro	Vermelho/bordô	Branco/azul
	0	1	2	3
				
8. Comprimento da língua*	< 50 mm	50 - 61 mm	> 62 mm	
	2	0	1	
FREQUÊNCIAS				
9. Frequência cardíaca*	< 80 bpm	80 - 100 bpm	> 100 bpm	
	2	0	1	
9. Frequência respiratória	Lenta (~24 rpm)	Normal (~24 -36 rpm)	Rápida (~ > 36 rpm)	
	1	0	2	

\* COMPRIMENTO DA LÍNGUA: medir a partir do lábio. Realizar esta medida apenas com 5 minutos após o parto

\*\* FREQUENCIA CARDÍACA: AUSCUTAR O CORAÇÃO PELO PEITO DO BEZERRO. Contar por 30 segundos e multiplicar por 2. (MURRAY, 2014)