Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Diarreia e acidose metabólica em bezerros leiteiros: efeito da composição do concentrado inicial e avaliação de probiótico

Marcelo Cezar Soares

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

Piracicaba
2013

Marcelo Cezar Soares
Médico Veterinário

Diarreia e acidose metabólica em bezerros leiteiros: efeito da composição do concentrado inicial e avaliação de probiótico

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

Piracicaba
2013

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

Soares, Marcelo Cezar
Diarreia e acidose metabólica em bezerros leiteiros: efeito da composição do concentrado inicial e avaliação de probiótico / Marcelo Cezar Soares.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.
168 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Bezerros 2. Desempenho 3. Distúrbio metabólico 4. Microorganismos 5. Ração 6. Subprodutos I. Título

CDD 636.214
S676d

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

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Zootecnia da ESALQ-USP, pela oportunidade e por ceder as infraestruturas necessárias para realização desse trabalho.

À Professora Dra. Carla Maris Machado Bittar, pela dedicação, orientação, paciência e oportunidades concedidas durante o período do mestrado.

À todos os professores que contribuíram para o meu conhecimento científico e crescimento profissional nas disciplinas das quais participei.

À CAPES e à FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos, e novamente à FAPESP pelo auxílio financeiro, o qual foi fundamental para a realização deste trabalho.

Ao laboratório IMEVE, pela confiança que teve em nós e pelo auxílio financeiro para realizar a pesquisa com probióticos.

A todos os colegas de trabalho do “Grupo de Pesquisa em Metabolismo Animal”, que ajudaram no campo, no laboratório e nos momentos difíceis durante o experimento.

Aos funcionários da secretaria, dos laboratórios, da biblioteca, do campo e da limpeza do Departamento de Zootecnia da ESALQ-USP.

A toda minha família que me deu todo tipo de suporte necessário e sempre acreditou em mim, tratando-me sempre com carinho e amor dignos de orgulho.

OBRIGADO!

"Ser feliz sem motivo
é a mais autêntica forma
de felicidade."

Carlos Drummond de Andrade

SUMÁRIO

RESUMO 11
ABSTRACT 13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 15
1 INTRODUÇÃO 17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 21
2.1 Utilização de subprodutos agroindustriais 21
2.1.1 Polpa cítrica 22
2.1.2 Melaço 23
2.2 Criação de novilhas de reposição 24
2.3 Sistema digestório de bezerros 25
2.4 Diarreia em bezerros 27
2.4.1 Diarreia de etiologia infecciosa em bezerros 29
2.4.2 Diarreia de etiologia não infecciosa em bezerros 32
2.5 Consequências da diarreia 33
2.5.1 Desidratação e desequilíbrio eletrolítico 33
2.5.2 Acidose metabólica 34
2.6 Probióticos 36
2.6.1 Mecanismo de ação dos probióticos 38
2.6.1.1 Exclusão competitiva 38
2.6.1.2 Produção de metabólitos prejudiciais às bactérias patogênicas 39
2.6.1.3 Ativação do sistema imunológico 40
2.6.2 Efeitos dos probióticos em bezerros 40
Referências 42

3 ESCORE FECAL E HEMOGASOMETRIA EM BEZERROS RECEBENDO CONCENTRADO INICIAL CONTENDO COPRODUTOS EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO 51
Resumo 51
Abstract 52
3.1 Introdução 53
3.2 Material e métodos 56
3.2.1 Ambiente e instalações 56
3.2.2 Manejo dos animais 57

3.2.3 Composição dos concentrados iniciais conforme tratamentos propostos 57
3.2.3.1 Experimento I: Avaliação de polpa cítrica como alternativa ao milho no concentrado inicial de bezerros leiteiros 57
3.2.3.2 Experimento II: Avaliação de diferentes níveis de melaço e xarope de glicose como alternativa ao milho no concentrado inicial de bezerros leiteiros 58
3.2.4 Avaliação de escore fecal 60
3.2.5 Avaliação dos sinais clínicos 60
3.2.6 Cálculos de índice de conforto térmico 61
3.2.6.1 Cálculo do ITU 61
3.2.6.2 Cálculo do ITE 62
3.2.7 Coleta de sangue e metodologia 62
3.2.8 Análises bioquímicas plasmáticas 63
3.2.8.1 Determinação de glicose 63
3.2.8.2 Determinação de proteínas totais 63
3.2.8.3 Determinação de albumina 63
3.2.8.4 Determinação de β-hidroxibutirato 64
3.2.8.5 Determinação de lactato total 64
3.2.8.6 Determinação de L-lactato 65
3.2.8.7 Determinação de D-lactato 65
3.2.9 Análises gasométricas e eletrolíticas 65
3.2.10 Hemograma 66
3.2.10.1 Determinação do hematócrito 66
3.2.10.2 Determinação de contagem total de eritrócitos 66
3.2.10.3 Determinação de VGM 66
3.2.10.4 Determinação de contagem total de leucócitos 67
3.2.10.5 Determinação de contagem diferencial de leucócitos 67
3.2.11 Análises estatísticas 67
3.3 Resultados e discussão 68
3.3.1 Dados meteorológicos e índices de conforto térmico 68
3.3.2 Escore fecal 72
3.3.3 Características das fezes e avaliação clínica 75
3.3.4 Leucograma 82
3.3.5 Eritrograma 86
3.3.6 Análises gasométricas e eletrolíticas 90

3.3.7 Análises bioquímicas plasmáticas 100
3.4 Conclusões 108
Referências 109

4 AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO E ALTERAÇÕES DE METABOLISMO E ESTRESSE EM BEZERROS EM SISTEMA DE DESALEITAMENTO PRECOCE SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICOS 120
Resumo 120
Abstract 121
4.1 Introdução 122
4.2 Material e métodos 124
4.2.1 Instalações, animais e manejo alimentar 124
4.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal 127
4.4 Avaliação das fezes e sanidade 127
4.5 Coleta de sangue e metodologia 127
4.6 Análises bioquímicas plasmáticas 128
4.6.1 Determinação de glicose no plasma 128
4.6.2 Determinação de proteínas totais no plasma 128
4.6.3 Determinação de albumina no plasma 128
4.6.4 Determinação de β-hidroxibutirato no plasma 129
4.6.5 Determinação de cortisol 129
4.7 Hemograma 129
4.7.1 Determinação de hematócrito 129
4.7.2 Determinação de contagem total de eritrócitos 130
4.7.3 Determinação de VGM 130
4.7.4 Contagem total de leucócitos 130
4.7.5 Contagem diferencial de leucócitos 131
4.8 Análise estatística 131
4.9 Resultados e discussão 133
4.9.1 Dados meteorológicos e índices de conforto térmico 133
4.9.2 Consumo de concentrado e desempenho 133
4.9.3 Escore fecal 141
4.9.4 Análises bioquímicas plasmáticas 142
4.9.5 Hemograma 150

4.10 Conclusões 158
Referências..... 159

RESUMO

Diarreia e acidose metabólica em bezerros leiteiros: efeito da composição do concentrado inicial e avaliação de probiótico

O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de diarreia e suas consequências no metabolismo animal em bezerros consumindo concentrado inicial contendo coprodutos como polpa cítrica, melaço e xarope de glicose; ou bezerros suplementados com probiótico. Dois experimentos foram conduzidos para avaliar o efeito da substituição de milho por coprodutos. No primeiro experimento, 24 bezerros com idade média de 2 semanas, foram distribuídos em 3 tratamentos e receberam concentrado inicial contendo doses crescentes de polpa cítrica em substituição ao milho. No segundo experimento, 32 bezerros foram divididos em 4 tratamentos, recebendo concentrado inicial contendo xarope de glicose e doses crescentes de melaço em substituição ao milho. Em ambos os experimentos, os animais foram alojados em abrigos individuais, receberam 4 L de sucedâneo lácteo por dia, dividido em duas refeições e tiveram livre acesso à água e concentrado. Após o diagnóstico da ocorrência de diarreia, foram realizadas avaliações de escore fecal, escore clínico, além de medição dos parâmetros fisiológicos, nas seguintes 24, 48 e 72 horas. Foram colhidas amostras de sangue para realização de hemograma, análises bioquímicas, análises gasométricas e eletrolíticas. A adição de coprodutos no concentrado inicial não afetou (P>0,05) o escore fecal, as características das fezes e os sinais clínicos dos animais diarreicos. As análises plasmáticas bioquímicas (glicose, proteínas totais, albumina, β-hidroxibutirato, nitrogênio ureico plasmático, lactato total, D- e L-lactato) apresentaram valores normais e não sofreram efeito negativo (P>0,05) em resposta da substituição de milho por coprodutos no concentrado. Não houve diferença entre os tratamentos (P>0,05) nas análises gasométricas e no eritrograma, com resultados indicando ausência ou baixo nível de acidose metabólica e desidratação nos animais. De acordo com o leucograma realizado, foi constatada leucocitose e neutrofilia na maioria dos casos, significando que a diarreia foi de origem infecciosa, descartando a possibilidade que o consumo de coprodutos no concentrado fosse a etiologia da diarreia. Um terceiro experimento foi realizado para avaliar o desempenho geral de bezerros suplementados com probióticos contendo bactérias ruminais. Foram utilizados 20 bezerros divididos em 2 tratamentos (controle e fornecimento oral de 2 gramas de probiótico/dia), sendo os animais avaliados até a 10ª semana de vida. Os animais alojados em abrigos individuais, receberam 6 L de sucedâneo lácteo por dia, e tiveram livre acesso à água e concentrado. O desaleitamento foi realizado na 6ª semana de vida, de forma a causar uma situação de estresse nos animais. O consumo diário de concentrado, ganho de peso, desenvolvimento corporal e escore fecal foram avaliados. Nas semanas 2, 4, 6, 8 e 10 foram colhidas amostras de sangue para determinação de parâmetros bioquímicos e realização do hemograma. O fornecimento de probióticos via oral não afetou (P>0,05) o escore fecal, o desempenho dos animais (ganho de peso e consumo de concentrado). Como conclusão, a substituição de milho por polpa cítrica, melaço ou xarope de glicose no concentrado inicial não apresentou efeitos negativos relacionados à diarreia e não agravou os quadros de desidratação e acidose metabólica. O fornecimento de 2 gramas diários de probióticos de bactérias ruminais não resultou em melhorias no desempenho de bezerros desaleitados precocemente.

Palavras-chave: Bezerros; Desempenho; Distúrbio metabólico; Microorganismos; Ração; Subprodutos

ABSTRACT

Diarrhea and metabolic acidosis in dairy calves: effect of composition of the starter feed and evaluation of direct-fed microbial

The objective of this study was to evaluate the occurrence of diarrhea and the consequences on animal metabolism of calves consuming starter feed containing coproducts such as citrus pulp, molasses and glucose syrup; or calves supplemented with direct-fed microbial (DFM). Two trials were performed to evaluate the effect of replacing corn by coproducts. In the first trial, 24 calves were divided into three treatments, and received starter feed containing increasing doses of citrus pulp replacing corn. In the second trial, 32 calves were divided into four treatments, and received starter feed containing glucose syrup and increasing doses of molasses replacing corn. In both experiments, animals were housed in individual hutches, received 4 L/d of milk replacer, divided into two meals and had free access to water and starter feed. After the diagnosis of the occurrence of diarrhea fecal score, clinical score, and the measurement of physiological parameters were evaluated during the following 24, 48 and 72 hours.Blood samples were taken for complete blood count (CBC), biochemical, electrolytes and gases analysis. The addition of coproducts in the starter feed had no effect (P>0.05) on fecal score, characteristics of the faeces and clinical signs of diarrheic animals. The plasma biochemical analysis (glucose, total protein, albumin, β-hydroxybutyrate, urea nitrogen, lactate total D-and L-lactate) showed normal values and were negativelly affected (P>0.05) in response to the substitution of corn by coproducts in the stater feed for calves. No alterations (P>0.05) were noted in the erythrocyte and blood gases results, suggesting absence or low level of dehydration, and metabolic acidosis in animals. According to the white blood cell count (WBC), leukocytosis and neutrophilia were observed in most cases, suggesting infectious diarrhea and rejecting the possibility that the consumption of coproducts in the starter feed were the etiology of diarrhea cases. A third trial was performed to evaluate the overall performance of dairy calves supplemented with a probiotic containg ruminal bacterias. Twenty calves divided into two treatments (control and oral and daily supply of 2 grams of probiotic), animals were evaluated up to 10 weeks of age. Animals were housed in individual hutches, received 6 L/d of milk replacer, and had free access to water and starter feed. Weaning was done at the 6th week of age, as a meaning of causing stress in animals. Daily starter feed intake, weight gain, body development, and fecal score were evaluated. At 2nd, 4th, 6th, 8th and 10th weeks, blood samples were collected for biochemical analysis and WBC. The oral supply of probiotic had no effect (P>0.05) on fecal score or animal performance (weight gain and starter feed intake). In conclusion, the substitution of corn by citrus pulp, molasses or glucose syrup in the starter feed for dairy calves had no negative effects related to diarrhea or the agravation of dehydration and metabolic acidosis. The oral and daily supply of 2 grams of probiotics containg ruminal bacteria resulted in no improvements in performance of early-weaned dairy calves.

Keywords: Byproducts; Calves; Direct-fed microbial; Metabolic disorders; Performance; Starter feed

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC – Ácido Graxo de Cadeia Curta

BE_{ecf} – Excesso de Base (fluído extra celular)

BHBA - β-hidroxibutirato

CBMAI - Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria

DFM – Direct-fed Microbials

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

EE – Extrato Etéreo

EPM – Erro Padrão da Média

FDA – Fibra Insolúvel em Detergente Ácido

FDN – Fibra Insolúvel em Detergente Neutro

GPD – Ganho de peso diário

Hb – Hemoglobina

HCT – Hematócrito (volume globular)

ITE – Índice de Temperatura Equivalente

ITU – Índice de Temperatura e Umidade

MM – Matéria Mineral

MS – Matéria Seca

NDT – Nutrientes Digestíveis Totais

NNP – Nitrogênio Não Proteico

NUP – Nitrogênio Ureico Plasmático

P< - Probabilidade

PB – Proteína Bruta

PBR – Probiótico de Bactérias Ruminais

PCO_2 – Pressão Parcial de Gás Carbônico

pH – Potencial Hidrogeniônico

TCI – Temperatura Crítica Inferior

TCS – Temperatura Crítica Superior

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UR – Umidade Relativa do Ar

VGM – Volume Globular Médio

1 INTRODUÇÃO

A utilização de novos recursos e tecnologias para o bem do ambiente e da humanidade torna-se cada vez mais necessária para um futuro sustentável. A utilização de subprodutos, ou melhor, resíduos de indústrias, é um desses recursos que podem ser utilizados na produção animal, como, por exemplo, na alimentação. Além disso, esses tipos de "subprodutos" que podem ser reutilizados são, no geral, economicamente mais viáveis do que os ingredientes comumente utilizados na ração animal.

A criação de bezerros ou de novilhas para reposição em uma propriedade leiteira representa mais do que custo, representa o futuro da reposição do rebanho ou a possibilidade de ampliação futura. Entretanto, muitos produtores não costumam analisar tal fato com a devida importância.

A dieta do bezerro representa a maior parte do custo de criação, por isso, diferentes estratégias de manejo alimentar que possibilitem o desaleitamento precoce estão sendo cada vez mais adotados com a preocupação de interferir o mínimo possível no desempenho animal. Porém, algumas dessas estratégias podem provocar reações metabólicas indesejáveis no organismo dos animais e, consequentemente, aumentar a incidência de distúrbios metabólicos nos sistemas de produção, como por exemplo, a diarreia.

A diarreia é um problema frequente que acomete bezerros durante as primeiras semanas de vida, podendo causar grandes prejuízos econômicos: aumentos nos custos de produção para prevenção, para tratamento, gerando consequências negativas na vida produtiva do animal, redução no desempenho, e, em casos mais graves, o óbito.

Os bezerros são bastante suscetíveis a infecções intestinais devido à facilidade de contaminação com microrganismos nos materiais utilizados para alimentação ou, até mesmo, no próprio ambiente onde o animal vive. No entanto, a maior parte da contaminação ocorre através do contato de animais saudáveis com animais infectados. Essa suscetibilidade a infecções aumenta ainda mais quando o animal não tem aquisição de imunidade passiva adequada. Dessa forma, o fornecimento adequado de colostro de boa qualidade é de extrema importância, pois os ruminantes nascem agamaglobulêmicos, ou seja, dependem exclusivamente do consumo de colostro para aquisição de imunoglobulinas durante as primeiras horas de vida.

A diarreia em bezerros pode apresentar etiologia infecciosa ou não infecciosa. A diarreia infecciosa tem, normalmente, como agentes etiológicos microrganismos como bactérias, vírus e protozoários. Os agentes mais comuns causadores de diarreia são as

bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella*, os vírus coronavírus e rotavírus e os protozoários *Cryptosporidium* e *Eimeria*. A diarreia de etiologia não infecciosa, frequentemente, deve-se ao ambiente inadequado e ao manejo alimentar do bezerro.

Animais pré-ruminantes possuem como a principal fonte de glicose a lactose proveniente da dieta líquida. Entretanto, quando se inicia a inclusão do concentrado inicial na dieta, o aumento no consumo de carboidratos de origem vegetal pode aumentar a frequência de casos de diarreia ou de acidose metabólica, devido ao fato do sistema digestório dos animais ainda não estar totalmente preparado para metabolizar esse tipo de alimento. A utilização do milho como fonte de origem vegetal na composição do concentrado inicial é o mais comum. Todavia, com o aumento dos preços dos grãos nos últimos anos, consequentemente com o objetivo de reduzir custos de produção e também devido a maior disponibilidade dependendo da região, estudos com a inclusão de uma séria de tipos de subprodutos substituindo o milho vem crescendo ao longo dos anos.

O uso desse tipo de ingrediente na alimentação animal, cada vez mais vem despertando o interesse dos produtores rurais, pois um volume muito grande é produzido anualmente pelas indústrias. Além da vantagem econômica, a utilização de subprodutos é vista com bons olhos pelas atuais políticas ambientais que, de forma crescente e com tendência a se fortalecer cada vez mais, vêm acompanhando de perto a eliminação de produtos pelas indústrias potencialmente poluentes. O crescimento demográfico aliado à otimização de espaço na área rural para evitar desmatamentos, principalmente nos países em desenvolvimento, torna o uso de subprodutos ainda mais interessante.

Entretanto, o uso de subprodutos na criação de bezerros pode apresentar fatores negativos, devido ao fato de que o rúmen dos animais nessa fase de vida não é totalmente funcional, e uma das prováveis consequências disso é o aumento da incidência ou agravamento clínico em distúrbios metabólicos consequentes da diarreia. Quando um bezerro apresenta quadro de diarreia, há grande perda de fluídos e eletrólitos do seu organismo. Assim, a consequente desidratação e o aparecimento do quadro de acidose metabólica são as principais causas de morte dos animais. A acidose metabólica é uma consequência da diarreia e pode ocorrer em animais com ou sem desidratação. Suas causas podem ser a perda de bicarbonato por meio das fezes, o aumento de concentração de íon de hidrogênio no organismo devido à diminuição da perfusão renal causada pela desidratação, e também o aumento de L- e D- lactato no organismo.

Estudos comprovam que os efeitos e gravidade da acidose e da desidratação são as principais causas de óbito de um bezerro com diarreia, porém há pouca informação sobre a

intensidade da acidose em animais com diarreia em decorrência do uso de ingredientes alternativos ao milho no concentrado inicial. Caso essa relação tenha uma influência significativa, é importante saber a intensidade dessa influência para inserirmos um tratamento adequado no controle dos distúrbios metabólicos e, principalmente, para avaliar os prejuízos possíveis no desenvolvimento animal e verificar em que medida o uso de subprodutos é benéfico.

Existem também outros recursos que ajudam a diminuir alguns prejuízos no organismo do animal, devido a um distúrbio como a diarreia. Os probióticos são cada vez mais bem vistos, pois além de apresentarem diversos efeitos benéficos aos animais, sua utilização é uma alternativa para a redução do uso de antibióticos, cujo uso tem sido feito de forma errônea, resultando em diversos efeitos maléficos não só nos animais, como também nos humanos, devido ao consumo de produtos de origem animal que carregam resíduos de antibióticos.

O objetivo dos estudos neste trabalho foi avaliar se o uso de subprodutos da indústria como a polpa cítrica e melaço, no concentrado inicial, pode ser prejudicial à saúde dos bezerros leiteiros ou se pode agravar determinadas doenças do trato gastrointestinal, como a diarreia. Além disso, objetivou-se também avaliar se o fornecimento de probióticos contendo bactérias ruminais pode trazer algum benefício aos bezerros, em questão de desempenho, nível de estresse durante o período de desaleitamento e incidência de diarreia.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Utilização de subprodutos agroindustriais

Torna-se interessante, cada vez mais, metodologias de produção de alimentos que foca manejos eficientes utilizando de maneira mais proveitosa possível os recursos disponíveis para atender a crescente população, mantendo ou melhorando a qualidade do ambiente e conservando os recursos naturais (PATERNIANI, 2011). Isso está sendo possível graças às pesquisas e ao emprego de tecnologias disponíveis, que tem sido responsáveis pelo aumento na produtividade agrícola por unidade de área. Atualmente são cultivados cerca de 18 milhões de km^2 de terra, se não houvesse o uso das tecnologias atuais para a melhoria da eficiência de produção e se a produtividade agrícola fosse comparada a de 1950, seriam necessários 48 milhões de km^2 de área cultivada para produzir a mesma quantidade de alimento (AVERY, 2007).

Os recursos naturais para manter a população são limitados, e somente o aproveitamento racional e eficiente poderá dar capacidade de produção de alimentos em quantidade e qualidade para suprir a demanda crescente de habitantes no planeta. Acrescenta-se a essa demasiada exploração do ambiente, milhões de toneladas de resíduos agroindustriais produzidos anualmente, e que, na maioria das vezes, são descartados na natureza, provocando um acúmulo excessivo de compostos nitrogenados (SUCASAS, 2011).

De acordo com Melo (2001) a utilização de subprodutos ou coprodutos agroindustriais é uma ótima opção quando se fala em sustentabilidade, merecendo cada vez mais atenção, visto que seu aproveitamento pode gerar despoluição do ambiente e economia na atividade. Além disso, são fontes valiosas de proteína, energia e fibra para a indústria de produção animal, podendo ser utilizados para substituir concentrados energéticos ou proteicos. O coproduto diferencia-se do subproduto pelo fato de ter valor de venda relativamente maior em relação ao subproduto e também em relação ao volume de vendas. Entretanto, esse cenário entre coprodutos e subprodutos pode ser mudado de acordo com a demanda e situação do mercado de uma região (HORNGREN; FOSTER; DATAR, 2000; FIGUEIREDO; MOURA, 2002).

Em todas as regiões do Brasil são produzidos grandes volumes de vários tipos de subprodutos passíveis de serem utilizados para alimentação animal. Dentre as várias possibilidades, existem os subprodutos e coprodutos da indústria alimentícia que se destacam como grande alternativa para substituição de ingredientes usuais de rações para animais, como

polpa cítrica, melaço, xarope de glicose, bagaço de cana, casca de soja, entre outros (ASSIS et al., 2001; BLASI et al., 2001; LESMEISTER; HEINRICHS, 2005; TEIXEIRA; PIRES; NASCIMENTO, 2007; SUCASAS, 2011).

Os ruminantes levam vantagens quanto à utilização de alguns desses principais subprodutos, pois possuem o sistema digestório capaz de aproveitar certos alimentos impróprios para o consumo humano, e convertê-los em alimentos de alta qualidade como a carne e o leite. Entretanto, o uso desses subprodutos na ração de ruminantes deve ser feito com cautela, para não causar algum distúrbio metabólico ou diminuir o desempenho dos animais (TEIXEIRA, PIRES, NASCIMENTO, 2007).

2.1.1 Polpa cítrica

A polpa cítrica é um subproduto da extração do suco de laranja, que, em sua forma fresca, é constituída de em torno de 60 a 65% de casca, 30 a 35% de polpa e bagaço e 10% de sementes. Apresenta-se como uma boa opção de alimentação energética para os animais ruminantes por não competir com a alimentação humana e por ser altamente disponível em algums regiões e economicamente viável (MELO, 2001).

Esse subproduto é obtido através de duas prensagens, que reduz sua umidade a 65-75% e secagem até atingir 95% de matéria seca, para então ser peletizada. Os teores de cálcio na polpa cítrica são elevados, pois se adiciona hidróxido ou óxido de cálcio antes da prensagem para facilitar a retirada da água. O valor nutricional da polpa cítrica é muito variado, visto que depende da variedade da laranja, da inclusão de sementes e da retirada ou não dos óleos essenciais, do próprio processo de prensagem e peletização (NUSSIO et al., 2000). Na Tabela 2.1, é possível observar valores da composição bromatológica da polpa cítrica avaliada por alguns autores.

Diferente dos grãos de cereais fontes de energia, como o milho, a polpa cítrica é pobre em amido, porém é rica em açúcares (25% da MS), pectina (25% da MS) e fibra altamente digestível (23% da MS). A pectina é o carboidrato complexo de mais rápida degradação ruminal, de 30 a 50% por hora, enquanto que os valores de amido são de 10 a 35% (MOSCARDINI, 2008).

Tabela 2.1 – Composição bromatológica da polpa cítrica, expressos com base na matéria seca

Fonte	MS[1]	PB	FDA	FDN	EE	MM	NDT
CASTO,A.K.M.;ZANETTI,M.A.,1998	91,40	6,45	33,74	28,77	3,65	6,56	76,13
PEREIRA, E.M., et al. 2007	92,62	7,77	22,15	23,43	2,37	7,44	76,62
PORCIONATO, M.A.F., et al. 2004	88,55	7,16	22,58	21,05	1,14	5,59	-
RODRIGUES, P.H.M. et al. 2007	89,92	6,88	12,31	27,80	-	-	-
NRC, 2007	-	7,00	18,00	21,00	2,20	7,00	79,00

[1] MS: matéria seca total (%); PB: proteína bruta (% MS); FDA: fibra em detergente ácido (% MS); FDN: fibra em detergente neutro (% MS); EE: extrato etéreo (% MS); MM: matéria mineral (% MS); NDT: nutrientes digestíveis totais (% MS).

O uso da polpa cítrica para alimentação de ruminantes adultos tem demonstrado efeitos positivos, principalmente em rações para bovinos em confinamento e lactação. Entretanto, para animais com menos de 60 dias, nos quais o trato digestório anterior não é totalmente maduro, o uso de polpa cítrica é questionável (SCHALCH et al., 2001).

2.1.2 Melaço

O melaço é um subproduto da indústria do açúcar, no Brasil facilmente encontrado em usinas de cana de açúcar. É utilizado para melhorar a palatabilidade da ração e, consequentemente, o consumo. Além do fornecimento de energia, contem pequena proporção de sacarose e grande proporção de outros açúcares. Apesar de possuir pouca proteína, é um alimento rico em sais minerais e vitaminas (MELO, 2001).

É um alimento com consistência líquido-pastosa e com alta concentração de açúcar, que pode aumentar a fermentação de carboidratos no ambiente ruminal, enquanto estimula o consumo de matéria seca. A inclusão de um produto a base de açúcar em uma dieta pode alterar os padrões de fermentação ruminal, diminuir a concentração de NH_3 e aumentar a concentração de butirato no rúmen. Açúcares que possuem fermentação rápida no ambiente ruminal, teoricamente, elevam a produção de ácido láctico e, consequentemente, a diminuição do pH ruminal, o que potencialmente poderia diminuir a digestibilidade das fibras e causar distúrbios metabólicos, devido a isso a utilização do melaço deve ser feita de maneira correta (MARTEL et al., 2011).

2.2 Criação de novilhas de reposição

Propriedades rurais, cuja principal atividade é a leiteira, possuem uma grande variedade de recursos, objetivos e custos, e a criação de novilhas para reposição representa uma das maiores despesas. Por isso, a administração minuciosa dos gastos com esses animais é de fundamental importância, considerando que o animal possui um tempo médio de 24 meses de investimento sem um retorno financeiro, até que ele comece produzir (MARTEL et al., 2011).

O maior custo diário de uma novilha de reposição é durante o período de aleitamento que corresponde em torno de 70% do custo total de criação. Entre outras despesas importantes está o gasto com medicamentos e prejuízos com a mortalidade dos animais (WILLETT, 1990). Segundo Glaber, Tozer e Heinrichs (2000), a criação de novilhas representa a segunda maior despesa em uma propriedade leiteira, representando aproximadamente cerca de 20% do total dos custos, seguindo apenas os gastos com a alimentação do rebanho em lactação. Por isso, minimizar os investimentos com novilhas, mas manter a integridade e o bom crescimento desses animais deve ser um dos objetivos primordiais dos produtores (HOFFMAN; FUNK, 1992).

O sucesso do bom crescimento das bezerras é de extrema importância para que uma propriedade leiteira seja economicamente rentável. Esse sucesso depende da interação do manejo nutricional, meio ambiente e saúde de bezerros, porém muitas vezes a criação de animais de reposição é negligenciada pelos produtores (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

O histórico de saúde dos bezerros, manejo e alimentação pode causar impacto na vida produtiva futura do animal e, consequentemente, ter um impacto econômico na propriedade (TOZER; HEINRICHS, 2001). Segundo um estudo realizado por Heinrichs (2011), problemas no parto, incidência de doenças como diarreia e problemas respiratórios em animais com menos de quatro meses, ganho de peso diário inadequado e baixo consumo de concentrado na fase do desaleitamento tem impactos negativos na produção na primeira lactação, na duração da vida produtiva e na idade de primeiro parto.

Há vários fatores que influenciam incidências de doenças em bezerros, consequentemente também o desenvolvimento dos animais. Entre os principais podem ser apontados a colostragem mal feita, fatores climáticos, o treinamento do tratador, o tamanho da fazenda, o local onde ocorreu o parto, o tipo de instalação, o estado da vaca que gerou o bezerro, o manejo, a nutrição e os aspectos do ambiente (WALTNER-TOEWS; MARTIN, MEEK, 1986; HEINRICHS et al., 1987, 2005; PLACE; HEINRICHS; ERB, 1998).

2.3 Sistema digestório de bezerros

Os bezerros, quando nascem, possuem o retículo-rúmen pouco desenvolvido e não funcional, representando em torno de 30% do total dos quatros compartimentos (Figura 2.1). Para se tornarem ruminantes funcionais, precisam passar por mudanças anatômicas e fisiológicas, onde o tempo e o tipo de alimento fornecido aos animais são fatores primordiais para isso (SILVA; BITTAR; FERREIRA, 2011).

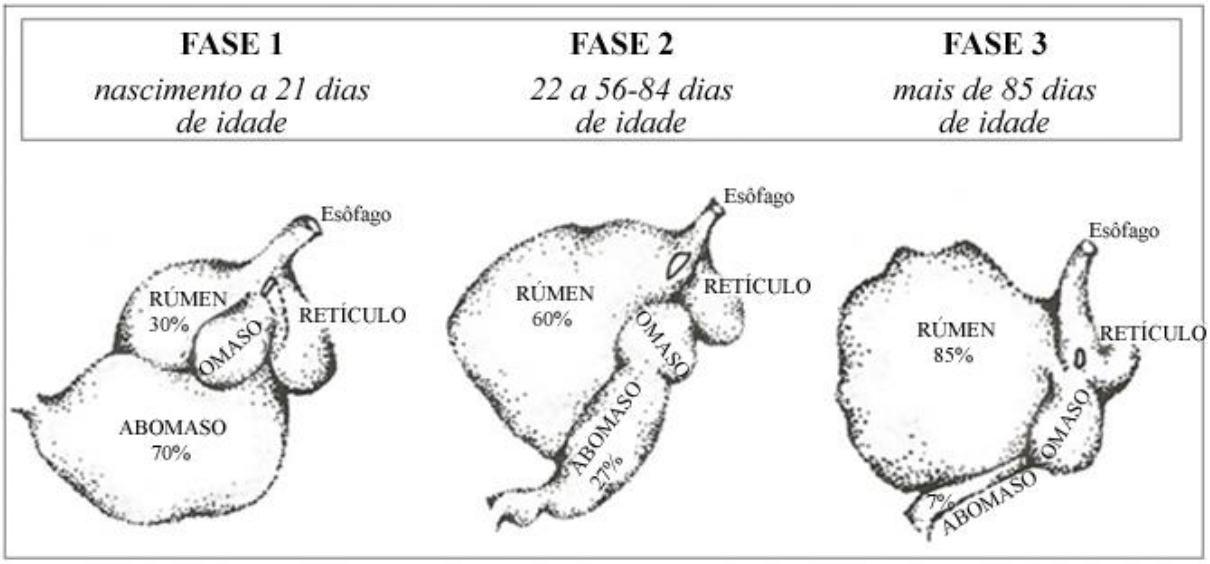

Figura 2.1 - Fases de desenvolvimento do rúmen em bezerros (Adaptado de DAVIS; DRACKLEY, 1998)

Além da imaturidade anatômica, os bezerros nas primeiras semanas de vida também apresentam limitações fisiológicas, pois não são capazes de produzir ou produzem baixa quantidade de enzimas responsáveis em digerir carboidratos (amilase, maltase e isomaltase), com exceção da enzima lactase, que tem a função de digerir a lactose proveniente do leite. Devido a estes aspectos do sistema digestório dos bezerros, a utilização de ingredientes inadequados ou de produtos de origem vegetal como os subprodutos, pode provocar distúrbios metabólicos, como a diarreia, devido à incapacidade de digestão no intestino. Toullec e Guilloteau (1989) observaram baixa produção das enzimas amilase pancreática e maltase em bezerros com até 3 semanas de vida, explicando a capacidade limitada de digestão de dissacarídeos e polissacarídeos durante esta fase da vida.

Com o desenvolvimento do trato digestório anterior, o rúmen se torna o principal compartimento digestório, sendo responsável pelo fornecimento de energia através da absorção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), embora uma pequena parcela de energia

também seja adquirida através da pouca glicose absorvida no intestino. Quando o rúmen ainda não é totalmente funcional, a manutenção da homeostase das concentrações plasmáticas de glicose no bezerro é realizada principalmente pelo fígado, através de controle entre utilização e produção de glicose hepática através de diversas enzimas (DURAN-SANDOVAL et al., 2005). Segundo Haga et al. (2008), a atividade destas enzimas é reduzida com a idade do animal, uma vez que estes se tornam menos dependentes de glicose circulante como fonte de energia. Também, são observados aumentos na concentração plasmática de acetato e β-hidroxibutirato (βHBA), mostrando que com o avanço da idade, os animais começam a absorver quantidades consideráveis de AGCC do rúmen e a utilizá-los para atender suas exigências energéticas.

A inclusão de subprodutos no concentrado inicial de bezerros ainda precisa ser mais estudada. Segundo Schalch et al. (2001), a inclusão da polpa cítrica em substituição ao milho tem grande potencial na alimentação animal devido a sua disponibilidade e baixo custo. Entretanto, devido ao possível efeito laxativo pela alta concentração de pectina na sua composição, que tem natureza hidrofílica, provavelmente o trânsito intestinal se torne mais rápido e a incidência de diarreias não infecciosas em animais consumindo este tipo de dieta pode ser maior. No entanto, poucos dados são encontrados na literatura relacionados à incidência de diarreia em bezerros consumindo polpa cítrica.

O melaço líquido é um componente comumente utilizado em rações iniciais para bezerros leiteiros para o aumento na palatabilidade e para melhorar a textura do concentrado. A faixa de inclusão do melaço varia normalmente entre 5 e 12% da matéria seca. Dados de Lesmeister e Heinrichs (2005) sugerem que a adição de melaço em rações pode afetar o desempenho dos animais, devido ao aumento da produção de ácido butírico e consequentemente maior desenvolvimento ruminal e de papilas ruminais. Hill et al. (2008) avaliaram o fornecimento de concentrado inicial para bezerros em aleitamento a base de milho, aveia, melaço ou casca de soja como fonte de carboidratos em uma série de quatro experimentos. No primeiro experimento, foram testadas dietas contendo 5% de melaço (controle), 10% de melaço e uma mistura de 5% de melaço + 1,5% de sacarose. Foram observados efeitos dos tratamentos no ganho de peso, onde os animais consumindo o concentrado contendo melaço + sacarose apresentaram menor ganho de peso diário, e maior pontuação no escore fecal para avaliação da incidência de diarreia.

2.4 Diarreia em bezerros

A diarreia é uma síndrome resultante de qualquer distúrbio do trato gastrointestinal decorrente a um processo patofisiológico que acarreta anormalidades fisiológicas. Dentre as mais importantes relacionadas ao trato gastrointestinal posterior é importante citar, anomalia do fluxo osmótico intestinal, exsudação, aumento de secreção de líquidos, queda da capacidade de absorção, inflamação do tecido epitelial e movimento peristáltico intestinal alterado (GUANDALINI; VAZIRI, 2011).

Em bezerros, a diarreia é um problema consequente de vários fatores, podendo ser isolados ou mais comumente, combinados, no qual abrange problemas relacionados com: ambiente impróprio, animal mal manejado, nutrição inadequada e incapacidade do sistema imunológico em combater agentes patológicos (BENESI, 1999).

As ocorrências de diarreia nos rebanhos de bezerros podem ser agrupadas em duas categorias etiológicas. Etiologia infecciosa que é adquirida por infecções por microrganismos e a etiologia não infecciosa que são ocasionadas principalmente devido a erros no manejo nutricional ou uma combinação de fatores como exposição do animal a ambientes inadequados e incapacidade do tratador em manejar o bezerro nas primeiras semanas de vida (STOLTENOW; VINCENT, 2003).

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2011) aproximadamente 92% das causas de mortalidade dos bezerros é devido a doenças e fatores climáticos, sendo essa taxa de mortalidade de 7,6% do total do rebanho durante o aleitamento. No Brasil, esse índice de mortalidade deve ser maior devido a menor adoção de tecnologia pela maior parte dos produtores, porém, o índice de mortalidade de até 5% entre o nascimento até o terceiro mês de idade é considerado aceitável (ROY, 1990). Segundo o levantamento do USDA (2007), um dos principais motivos para esse índice de mortalidade é a falha de transferência de imunidade passiva, ou seja, falhas do manejo em relação ao fornecimento de colostro. Outro estudo relata que a morte de bezerros durante o aleitamento chega aos 8,4% e que 52% destes óbitos se devem a diarreia causada por dois principais motivos, a falta de higinização do ambiente e utensílios e a ingestão inadequada de colostro (QUIGLEY et al., 1994). Com isso, a diarreia e suas consequências como acidose e desidratação, são responsáveis pelo principal motivo de mortalidade de bezerros antes do desaleitamento (NAYLOR; ZELLO; ABEYSEKARA, 2006; LEAL et al., 2008). Doenças como diarreia e pneumonia, não só apresentam prejuízos diretos com medicamentos e mortalidade como também apresentam grandes influências nos

prejuízos na vida adulta do animal em relação à produção (HEINRICHS, 2011). Segundo Waltner-Toews, Martin e Meek, (1986), novilhas que apresentaram quadro de diarreia foram 2,5 vezes mais propensas a serem descartadas do rebanho antes do tempo, e 2,9 vezes mais propensas a parir depois dos 900 dias de idade, sendo que a idade média ideal do primeiro parto é de 730 dias. Essa grande susceptibilidade que os bezerros possuem para apresentarem diarreia se deve ao fato de nascerem agamaglobulêmicos. Os ruminantes possuem placenta do tipo sindesmocorial, a qual não permite a transferência de imunoglobulinas para o feto durante a gestação. Desse modo, os recém-nascidos dessa espécie devem ingerir o colostro de maneira correta para obtenção de imunidade passiva, o que garantirá defesa até que seu próprio sistema imune passe a ser funcional (TIZARD, 1998). Segundo estudo realizado por Millemann (2009), em rebanhos onde a imunidade passiva é realizada de maneira inadequada, a incidência de diarreia em bezerros é maior, principalmente pelo fato da contaminação por agentes etiológicos ser mais propícia. A ingestão de colostro é importante por diversos motivos, primeiramente devido a seu alto valor nutritivo, demonstrado na Tabela 2.2 (KERTZ, 2008), podendo possuir até duas vezes mais a quantidade de proteína e gordura do que o leite normal.

Tabela 2.2 - Características físicas e composição do colostro e do leite de vacas da raça Holandês

Ordenhas pós-parto	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**Leite**
Gravidade específica	1,056	1,040	1,035	1,033	1,033	1,032
pH	6,32	6,32	6,33	6,34	6,33	6,50
Total de sólidos, %	23,9	17,9	14,1	13,9	13,6	12,9
Gordura, %	6,7	5,4	3,9	4,4	4,3	4,0
Sólidos não-gordura, %	16,7	12,2	9,8	9,4	9,5	8,8
Proteína total, %	14,0	8,4	5,1	4,2	4,1	3,1
Caseína, %	4,8	4,3	3,8	3,2	2,9	2,5
Albumina, %	0,9	1,1	0,9	0,7	0,4	0,5
Imunoglobulina, %	6,0	4,2	2,4	-	-	0,09
IgG, %	3,2	2,5	1,5	0	0	0,06
NNP, %	8,0	7,0	8,3	4,1	3,9	4,9
Lactose, %	2,7	3,9	4,4	4,6	4,7	5,0
Cinza, %	1,11	0,95	0,87	0,82	0,81	0,74

Fonte: Kertz (2008)

Além disso, o colostro tem importância como fornecedor de fatores de crescimento e hormônios que auxiliam o desenvolvimento do sistema digestório. No entanto, a principal função do colostro é fornecer imunoglobulinas que serão absorvidas nas primeiras horas após o nascimento (DAVIS; DRACKLEY, 1998). Dentre as imunoglobulinas obtidas no colostro bovino, a IgG é encontrada em maior quantidade, em torno de 85% a 90%, também há outros tipos de imunoglobulinas como a IgM representando em torno de 7% e a IgA representando em torno de 5% (LARSON; HEARY; DEVERY, 1980).

Segundo Millemann (2009), certas características desfavoráveis do ambiente também podem facilitar um surto de diarreia em um rebanho de bezerros, o que é um fator importante em sistemas em regiões de clima tropical úmido como no Brasil.

2.4.1 Diarreia de etiologia infecciosa em bezerros

As diarreias de etiologia infecciosa são causadas por microorganismos oportunistas, os quais são encontrados no meio ambiente e provocam inúmeros sinais clínicos quando o animal fica imunodeficiente. Os principais agentes envolvidos em surtos de diarreia podem ser bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter*), vírus (coronavírus, rotavírus, torovírus, norovírus) ou protozoários (*Cryptosporidium sp.* e *Eimeria bovis*, *Eimeria zuernii*); podendo ser agentes causadores da infecção, juntos ou isolados, sendo a primeira situação de maior ocorrência (FAGAN; DWYER; QUINLAN, 1995; MILLEMANN, 2009).

Cada agente patológico possui uma tendência em afetar os animais em uma faixa de idade específica, no qual o mesmo possui maior susceptibilidade de infecção (Figura 2.2), e isso pode ser utilizado como ferramenta suporte para ajudar a diagnosticar a etiologia da doença e assim, realizar o melhor tratamento. Exemplos mais comuns que podem ser citados são a *Escherichia coli e* o Rotavírus que acometem, em sua maioria, bezerros com até uma semana de idade, enquanto protozoários do gênero *Eimeria spp*, normalmente acometem bezerros com mais de 4 semanas de vida.

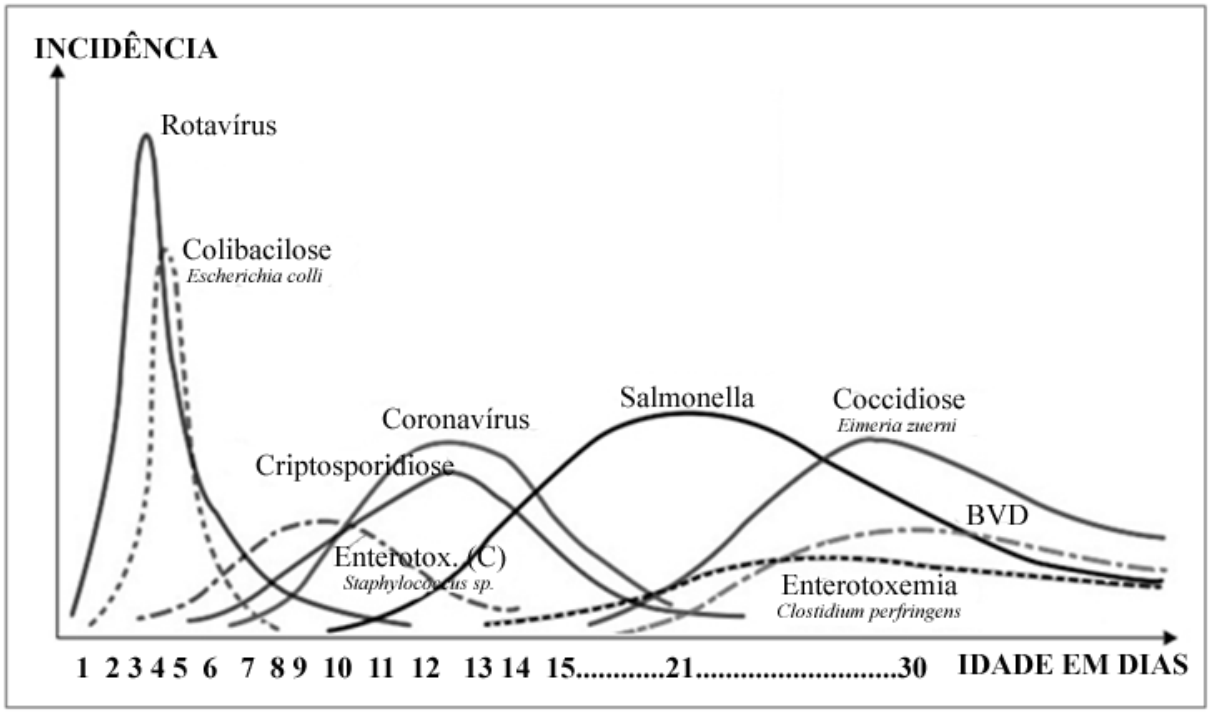

Figura 2.2 - Incidência e agentes etiológicos causadores de diarreia de acordo com a idade dos bezerros (Adaptado de MILLEMANN, 2009)

Segundo Millemann (2009), alguns aspectos da diarreia, como a característica das fezes também podem orientar o diagnóstico do principal agente etiológico causador da infecção (Tabela 2.3).

Em estudo realizado por Snodgrass; Terzolo; Sherwood (1986) foram avaliadas as ocorrências dos principais agentes etiológicos de diarreia em bezerros em 32 propriedades. Conforme esperado, as avaliações das fezes detectaram enteropatógenos nos animais com diarreia; entretanto, estes microorganismos também foram observados em bezerros saudáveis. A avaliação dos animais saudáveis mostrou que o rotavírus foi excretado em 18% dos bezerros, o coronavírus em 4%, o Cryptosporidium em 14%, entretanto, não foi detectada a presença de *E. coli* enterotoxigênicas nem de Salmonella. No entanto, em bezerros apresentando quadro clínico de diarreia todos esses enteropatógenos apresentaram maior prevalência, sendo o rotavírus excretado em 50% dos bezerros de 18 propriedades, assim como o coronavírus, enquanto que 15% desses bezerros sofreram infecção simultânea com dois ou mais microrganismos.

Tabela 2.3 - Características de diarreia em bezerros conforme o agente patológico

Idade média dos bezerros afetados	Características e Sinais Clínicos	Provável agente etiológico
1 a 3 dias	Fezes muito líquidas e amarelas Desidratação rápida e séria Fraqueza e extremidades geladas	Colibacilose (*E. coli*)
4 a 11 dias	Fezes com muco, cinza ou amarelas Hipertermia Anorexia, dor abdominal Desidratação progressiva	Rotavírus Coronavírus *Cryptosporidium sp.*
>11 dias	Fezes muito líquidas com vestígios de sangue Hipertermia severa (> 41ºC)	*Salmonella spp.*
>18 dias	Fezes pretas, podendo haver sangue Hipertermia e cólica Fezes com muco Anorexia Epífora, ptialismo	Coccidiose (*Eimeria*) Diarreia Viral Bovina

(Adaptado de MILLEMANN, 2009)

Quando agentes infecciosos nocivos (bactéria, vírus, protozoários e parasitas) invadem o organismo do animal, ocorre uma ativação do sistema imunológico com a finalidade de eliminar o patógeno e impedir infecções. O sistema imune é composto por anticorpos (glicoproteínas) e diversas células como linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos que exercem sua ação de defesa contra vários tipos de agentes, fato importante para manter a integridade da saúde do hospedeiro (MACHADO et al., 2004).

Os neutrófilos bastonetes ou neutrófilos segmentados (maduros) são células liberadas para a corrente sanguínea devido a mediadores químicos decorrentes de processos inflamatórios. São células que fagocitam os microrganismos, provocando sua destruição (HOKAMA; MACHADO, 1997). Já os monócitos e macrófagos representam a segunda linha principal de células fagocíticas, perdendo apenas para os neutrófilos. Os monócitos são células imaturas encontradas na corrente sanguínea periférica que, após se locarem em um tecido determinado diferenciam em macrófagos. São indicadores de inflamações agudas e crônicas e também de estresse crônico (METZGER JR.; REBAR, 2004).

Os linfócitos são os responsáveis pela memória imunológica e formação de anticorpos específicos, podendo ser divididos em: células *Natural Killers*, linfócitos T e linfócitos B. Diferente dos outros leucócitos que são gerados na medula óssea (hematopoiese), os linfócitos também são gerados por outros tecidos denominados tecidos linfoides como os linfonodos, timo, baço e placas de Peyer (NETO et al., 2009). Valores baixos de linfócitos não

representam significado clínico importante, entretanto, valores altos podem representar infecções agudas por vírus e/ou bactérias e também devido a estresse agudo (FRASER; TILYARD, 2008).

Quando o animal passa por uma situação que gera estresse, o teor de cortisol e/ou adrenalina no sangue induz a mobilização de leucócitos do compartimento vascular marginal para o compartimento circulante, particularmente os neutrófilos e linfócitos, o que resulta na alteração denominada leucocitose fisiológica. Os corticosteróides ainda, ao contrário da adrenalina, induzem a linfopenia por meio da linfólise e da diminuição da recirculação dos linfócitos (PAES et al., 2012).

O estresse dos animais pode ocorrer por motivos físicos (fome, fadiga e lesão) e característica climáticas inadequadas (altas temperaturas e umidade), ou, ainda, por fatores psicológicos, como medo (GRANDIN, 1997). Segundo Loerch e Fluharty (1999), o desmame é possivelmente um dos fatores mais estressantes no manejo de bezerros, principalmente quando é realizado de maneira abrupta. Por isso, todos esses fatores podem interferir no sistema imunológico dos animais, provocando alterações nos exames hematológicos (PAES et al., 2012).

2.4.2 Diarreia de etiologia não infecciosa em bezerros

As diarreias de origem não infecciosa normalmente ocorrem devido a erros de manejo, principalmente com problemas relacionados ao ambiente e também na alimentação inadequada. Os principais problemas encontrados no ambiente são temperaturas elevadas, corrente de ar muito fria direta nos animais, piso ou cama com alta umidade, infraestrutura inadequada das baias, falta de higiene, alta densidade animal e a convivência com animais de diferentes faixas etárias. Em relação ao manejo nutricional, a diarreia está normalmente associada ao fornecimento de leite descarte, concentrados contendo ingredientes inadequados, além do fornecimento de sucedâneos de baixa qualidade e com problemas de diluição (JOHNSTON; BUESNEL; MORAN, 2008).

2.5 Consequências da diarreia

2.5.1 Desidratação e desequilíbrio eletrolítico

A homeostase de um organismo é essencial para a sobrevivência, o qual depende de múltiplos ajustes de equilíbrios dinâmicos. Manter o equilíbrio do balanço eletrolítico nos fluídos e nos tecidos do organismo é de fundamental importância homeostática para vários aspectos relacionados ao metabolismo e absorção (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

A Figura 2.3 ilustra de maneira geral o funcionamento da pressão osmótica existente entre as membranas celulares, que cria uma concentração correta de íons solúveis (sódio, potássio, fósforo, cloreto e bicarbonato) nos fluídos do corpo do animal. A água representa cerca de 75% do peso corporal de um bezerro. O líquido extracelular que compreende os compartimentos intravascular e intersticial corresponde em média a 25% do total de líquido do corpo, ou outros 75% encontra-se dentro das células (intracelular). As trocas entre os compartimentos extracelular e intracelular baseiam-se no equilíbrio osmótico. A concentração de íons entre esses dois setores é regulado por meio do mecanismo conhecido como bomba de sódio, o que explica a maior concentração de Na^+ no meio extracelular e maior concentração de K^+ no meio intracelular. Quando o animal diarreico entra em desidratação todo esse sistema hidroeletrolítico se desregula (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

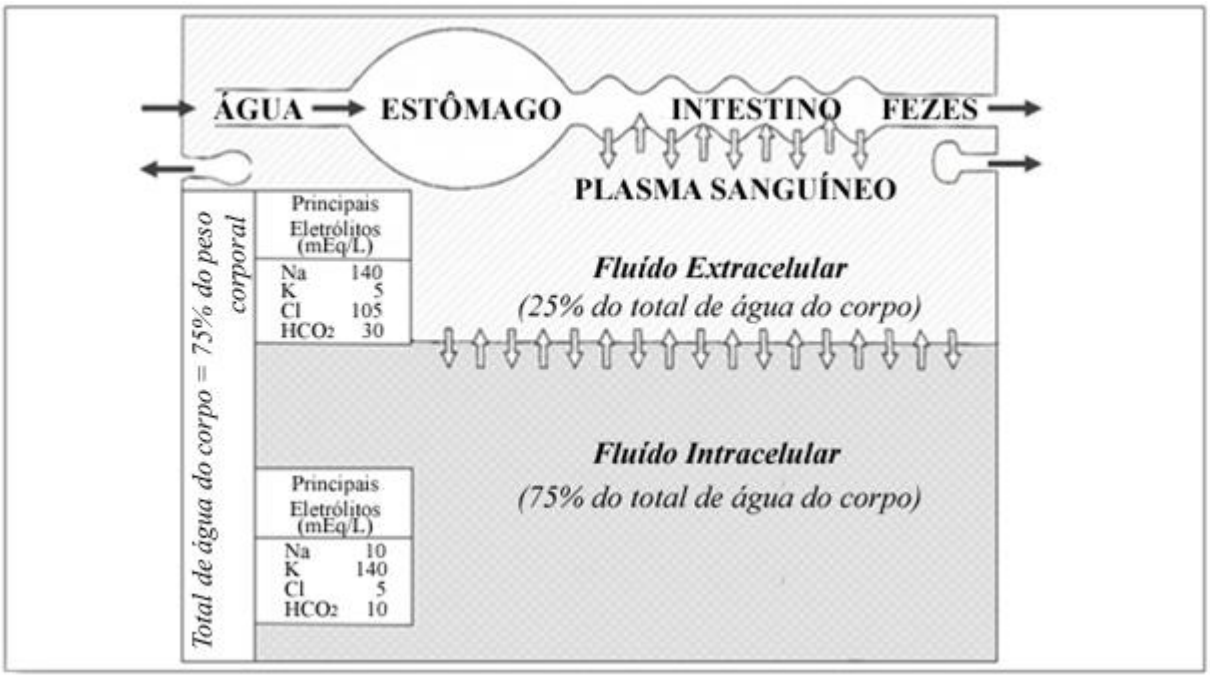

Figura 2.3 - Representação esquemática do reservatório de água corporal e concentração dos principais eletrólitos no fluído corporal de bezerros saudáveis (Adaptado de DAVIS; DRACKLEY, 1998)

A desidratação é a diminuição de líquido do compartimento extracelular devido às perdas hidroeletrolítica, podendo representar risco de vida ao animal. Sua severidade depende da intensidade da perda de líquidos e da proporção de perdas de sais em relação à perda de água, podendo ser caracterizado como desidratação isotônica, hipotônica ou hipertônica. O desequilíbrio de eletrólitos pode provocar sérios danos ao organismo, além do desequilíbrio acidobásico, distúrbios de sódio pode prejudicar o sistema nervoso e distúrbios de potássio podem causar danos ao sistema cardíaco (BARBOSA; SZTAJNBOK, 1999).

Independente da etiologia da diarreia, a intensidade da desidratação pode chegar até 13% de perda de líquidos do peso corporal do animal em 24 horas. Além da perda da água, pode ocorrer déficit de íons do organismo como bicarbonato de sódio, cloreto e potássio através das fezes (RAVARY-PLUMIOËN, 2009). Segundo Davis e Drackley (1998), associada à perda de água do organismo, há grande perda de cloreto e de sódio e perda menos acentuada de potássio, cálcio e magnésio durante o quadro de diarreia. Além dessas alterações, ocorrem alterações metabólicas como a hipoglicemia, diminuição da perfusão renal, balanço energético negativo e também a acidose, devido à perda de bicarbonato de sódio pelas fezes e acúmulo de ácido lático nos tecidos (RAVARY-PLUMIOËN, 2009).

2.5.2 Acidose metabólica

As variações de pH no organismo podem prejudicar o funcionamento da homeostase e acarretar sérios prejuízos na saúde do animal. O sangue pode ser usado como parâmetro de avaliação do estado ácido-base, devendo estar aproximadamente com pH 7,4. Para evitar variações do pH sanguíneo, existem sistemas tamponantes como as proteínas plasmáticas, hemoglobina, sistema fosfato-ácido-fosforo e sistema bicarbonato-ácido-carbônico (ALMOSNY, 2003).

Com valores anormais de pH sanguíneo, ocorre no organismo um quadro de acidose ou alcalose que podem ser classificadas como metabólicas, respiratórias ou mistas. Conforme a Tabela 2.4, pode-se classificar a acidose ou alcalose através dos valores de pH, bicarbonato e pressão de gás carbônico (PCO_2) (ORTOLANI, 2003).

Tabela 2.4 - Classificação dos desequilíbrios acidobásicos com os correspondentes efeitos em algumas variáveis gasométricas

Desequilíbrio	**pH**	***P*CO$_2$**	**HCO$_3^-$**	**Excesso de base**
Acidose metabólica	↓	↓*(N)*	↓	↓
Acidose respiratória	↓	↑	↑*(N)*	↑*(N)*
Alcalose metabólica	↑	↑*(N)*	↑	↑
Alcalose respiratória	↑	↓	↓*(N)*	↓*(N)*

Fonte: Ortolani (2003)
(N): Resposta compensatória

A acidose metabólica caracteriza-se por aumento de íons H^+ no organismo e por perda fecal de bicarbonato. A gravidade da acidose metabólica pode ocorrer por três diferentes situações: geração de ácido lático, geração de outros ácidos e menor excreção de íons de H+ do organismo causada, por exemplo, pela queda da perfusão renal consequente da desidratação. Os ácidos láticos responsáveis pela acidose metabólica são o L-lactato e o D-lactato, produzido por lactobacilos (MILLEMANN, 2009). Alguns estudos relatam que há pouca relação entre a acidose metabólica em bezerros e a desidratação, embora seja uma síndrome normalmente encontrada como consequência da desidratação em animais com diarreia (KASARI; NAYLOR, 1986). De acordo com Lorenz (2004), durante o quadro de desidratação, a perfusão renal é diminuída e, portanto, a excreção de íons de hidrogênio é reduzida, agravando a acidose.

A acidose L-lática ocorre devido à inadequada perfusão dos tecidos em consequência da desidratação ou endotoxemia seguida de glicólise anaeróbica e posterior diminuição da depuração hepática do L-lactato. Entretanto, é importante saber que o L-lactato não é o único ácido orgânico responsável pela acidose (OMOLE et al., 2001).

A acidose D-lática não é resultado da produção das células do organismo como o L-lactato. O D-lactato, que representa em torno de 64% do total de ácidos orgânicos no plasma de um bezerro com acidose, é de origem microbiana. O alimento mal digerido no intestino delgado passa para o intestino grosso onde é fermentado por bactérias resultando na produção de ácidos orgânicos que diminuem o pH do lúmen intestinal. Assim, microrganismos que sobrevivem bem em ambientes ácidos como os *Lactobacillus spp.* produzem o D-Lactato no lúmen, que é, então, posteriormente absorvido (EWASCHUCK, 2004).

De acordo com Sockett (2009), a principal causa da acidose D-lática em bezerros é a má digestão de alimentos, a qual faz com que os carboidratos não digeridos sejam fermentados no cólon diminuindo o pH do lúmen, aumentando a população de *Lactobacillus spp*. e

consequentemente, a produção de D-lactato. Dessa forma, o fornecimento de concentrado inicial formulado com ingredientes inadequados para esta categoria animal pode levar ao aumento da ocorrência de quadros de diarreia alimentar ou de acidose, e, consequentemente, ao desempenho prejudicado dos animais.

Além disso, alguns trabalhos mostram que, devido a grande concentração de ácidos circulante, ocorrem falhas no estímulo ao fechamento da goteira esofágica. Isso faz com que grande parte da dieta líquida vá diretamente para o rúmen e, devido à fermentação ruminal, provoque produção ainda maior de D-lactato no trato digestório. Nestes casos, é bastante comum observar quadros de depressão, fraqueza e dificuldade de sucção, já que D-lactato pode apresentar efeito neurotóxico, além disso, pode ocorrer desnutrição, queda na taxa de desempenho, hiperparaqueratose na mucosa do rúmen, atrofiamento nas vilosidades da mucosa do intestino delgado e inibição da coagulação de caseína dentro do abomaso (BREUKINK et al., 1988). Um estudo realizado por Lateur-Rowet e Breuikink (1983) demonstrou que o uso de sonda para alimentar bezerros não provoca o estímulo de fechamento da goteira esofágico, podendo provocar problemas de distúrbios metabólicos (RODRIGUES; LUCCI; RODRIGUES, 2002).

2.6 Probióticos

Ao longo dos anos, o termo “probiótico” tem sido usado de maneiras diferentes. Foi originalmente usado para descrever as substâncias produzidas por um protozoário que estimula o crescimento de outro (LILLY; STILLWELL, 1965). Segundo Fuller (1989), a melhor definição de probiótico é um suplemento alimentar microbiano vivo, enfatizando como componente essencial, células vivas, as quais afetam beneficamente o animal hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano intestinal.

Em trabalhos norte-americanos, o termo DFM (Direct-fed microbials) tem sido utilizado no lugar de probiótico. Isso por que em 1989, a entidade responsável pelo registro e liberação de drogas, antibióticos, aditivos ou qualquer outra substância de uso em humanos e animais dos EUA (Food and Drug Administration), exigiu que os fabricantes adotassem esta denominação (MARTIN; NISBET, 1992). No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2004), reconhece o termo probiótico para alimentação animal como cepas de microrganismos vivos (viáveis), que agem como auxiliares na recomposição da flora microbiana do trato digestório dos animais, diminuindo o número dos microrganismos patogênicos ou indesejáveis.

O uso inadequado e indiscriminado de antibióticos, tanto para uso em tratamentos de doenças ou como recurso para melhorar o desempenho animal, pode tornar bactérias patogênicas mais resistentes a antibióticos, tornando-as mais difíceis de serem combatidas (NASCIMENTO; MAESTRO; CAMPOS, 2001).

Uma das alternativas para contornar esse problema é o uso de probióticos. Em vacas lactantes ou em animais em crescimento, a sua utilização tem a capacidade de melhorar a saúde dos animais, o desempenho, o sistema imunológico e combater microrganismos patógenos (KREHBIEL et al., 2003).

Os microrganismos, para pertencerem ao grupo dos probióticos, devem apresentar algumas características importantes como resistência aos ácidos e enzimas do trato digestório, permanecerem viáveis no alimento até o momento do consumo, não oferecerem perigo aos animais e humanos e gerarem benefícios ao hospedeiro (COPPOLA; TURNES, 2004). De acordo com Holzapfel et al. (2001), os microorganismos probióticos são divididos em dois principais grupos: bactérias ácido-lácticas e bactérias não ácido-lácticas (Tabela 2.5).

Tabela 2.5 - Principais microorganismos considerados probióticos

Bactérias ácido-lácticas			**Bactérias não ácido-lácticas**
Lactobacillus	***Bifidobacterium***	**Outras espécies**	
L. acidophilus	*B. adolescentis*	*Enterococcus faecalis*	*Bacillus cereus*
L. amylovorus	*B. animalis*	*Enterococcus faecium*	*Escherichia coli* cepa *nissle*
L. casei	*B. bifidum*	*Lactococcus lactis*	*Propionibacterium freudenreichii*
L. crispatus	*B. breve*	*Leuconstoc mesenteroides*	*Saccharomyces cerevisiae*
L. bugaricus	*B. infantis*	*Pediococcus acidilactici*	*Saccharomyces boulardii*
L. galinarum	*B. lactis*	*Sporolactobacillus inulinus*	
L. gasseri	*B. longum*	*Streptococcus thermophilus*	
L. johnsonii			
L. paracasei			
L. rhamnosus			

Adaptado de Holzapfel et al. (2001)

2.6.1 Mecanismo de ação dos probióticos

As bactérias pertencentes ao grupo dos probióticos, produtoras de ácido lático, possuem potenciais efeitos benéficos no trato gastrointestinal posterior, entretanto, recentemente, foram retratados efeitos benéficos também no trato gastrointestinal anterior de ruminantes (SEO et al., 2010).

De acordo com Garcia (2008) e Seo et al. (2010), os mecanismos de ação dos probióticos sobre as bactérias patogênicas ainda não são totalmente conhecidos, porém sabe-se que, um ou mais processos, associados ou não, alterariam a atividade e composição bacteriana do trato gastrintestinal de forma favorável ao hospedeiro. Existem vários mecanismos de ação dos probióticos, entre os principais, compreendem-se: a exclusão competitiva, na qual bactérias probióticas competiriam por sítios de adesão na mucosa intestinal ou também por nutrientes; a produção de metabólitos, que são prejudiciais às bactérias patogênicas, funcionando como bacteriocinas; e a ativação do sistema imunológico, reforçando a barreira da mucosa e suprindo as inflamações intestinais. (Tabela 2.6).

Tabela 2.6 - Principais modos de ação de bactérias probióticas no trato gastrointestinal de bezerros

Mecanismos propostos
1. Produção de compostos antibacterianos (ácidos, bacteriocinas, antibióticos)
2. Competição com patógenos para a colonização da mucosa e/ou de nutrientes
3. Produção e/ou estimulação de enzimas
4. Estimulação da resposta imune do hospedeiro
5. Metabolismo de compostos benéficos ao hospedeiro e desintoxicação

Adaptado de Seo et al. (2010)

2.6.1.1 Exclusão competitiva

Alguns microrganismos se aderem à mucosa da parede do trato gastrointestinal para produzir suas toxinas, uma vez que essa adesão ocorre, evita que o microrganismo patogênico seja eliminado através dos movimentos peristálticos do intestino. A *Escherichia coli* é um exemplo de bactéria que se anexa às células epiteliais do intestino, produzindo enterotoxinas provocando diarreia (JONES; RUTTER, 1972; SALMINEN; ISOLAURI; SALMINEN, 1996).

Os microorganismos se aderem no epitélio intestinal através de sítios de aderência específicos da interação de mucopolissacarídeos da parede celular e da mucosa intestinal. Um dos principais meios de ação dos probióticos é a competição desses sítios de adesão, resultando em competição de espaço com os microorganismos patogênicos (FULLER; BROOKER, 1974; CROSS, 2002; KREHBIEL et al., 2003). Seguindo o pensamento de Coppola e Turnes (2004), conclui-se que para melhorar a eficácia do efeito de exclusão competitiva é de extrema valia o fornecimento de probiótico de forma diária e contínua.

2.6.1.2 Produção de metabólitos prejudiciais às bactérias patogênicas

O lactato e acetato são os principais produtos metabólicos finais das bactérias probióticas. Esses ácidos possuem propriedades prejudiciais a muitas bactérias patogênicas (SEO et al., 2010).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é outro composto importante produzido pelas bactérias probióticas. É principalmente ativo no trato gastrointestinal anterior, devido à presença de oxigênio, pois possui efeito oxidante forte nas células bacterianas. Além disso, atua na oxigenação nos grupos sulfidrilas. Com isso, bloqueia o transporte de glicose e a atividade da hexoquinase e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase das bactérias patogênicas (DICKS; BOTES, 2010).

Algumas cepas probióticas possuem ainda a capacidade de inibir a multiplicação de microrganismos patogênicos, através da síntese de bacteriocinas, influenciando diretamente a saúde do hospedeiro (JIN; MARQUARDT; BAIDOO, 2000; CHIODA et al., 2007).

De acordo com Russel e Mantovani (2002) define-se bacteriocinas como biomoléculas formadas por aminoácidos de baixo peso molecular com função antimicrobiana, sendo produzidas por determinadas linhagens de bactérias lácticas, que apresentam espectro de ação variado. A atuação das bacteriocinas ocorre primariamente sobre a membrana plasmática bacteriana, formando poros que possibilitam a perda de componentes citoplasmáticos, ocasionando a morte celular. Também existem outras bacteriocinas que atuam na inibição da enzima ribonucleotídeo redutase, interferindo, com isso, na síntese de DNA de alguns microrganismos (SEO et al., 2010). Existem algumas bacteriocinas encontradas no rúmen, sendo essas substâncias mais efetivas contra bactérias gram-positivas, em geral, a ação antimicrobiana assemelha-se à dos ionóforos (MANTOVANI et al., 2001).

Schulz et al. (2003) apresentam a nisina como um exemplo de bacteriocina produzida por certas linhagens de *Lactococcus lactis*, cujo nome é derivado do termo "N-inhibitory

substances"(NiS). Essa bacteriocina foi descrita pela primeira vez por Rogers (1928), como uma substância inibidora do crescimento do *Lactobacillus bulgaricus*. Posteriormente, chegou-se a conclusão de que a nisina inibe o crescimento de bactérias Gram-positivas e o crescimento de esporos de *Clostridium* e *Bacillus*.

2.6.1.3 Ativação do sistema imunológico

O sistema gastrointestinal está em permanente contato com agentes e substâncias do meio externo. Além de cumprir com a função de processamento, digestão e absorção de nutrientes, o sistema digestório deve evitar que agentes patogênicos ou substâncias estranhas consigam se incorporar no organismo. Essa função de defesa pode ser realizada através de reações inespecíficas (inatas) ou específicas (sistema imunológico) (KREHBIEL et al., 2003).

A ativação do sistema imune é outro modo de ação identificado pelas bactérias probióticas, reforçando a barreira da mucosa e suprimindo as inflamações intestinais. No sistema gastrointestinal, são encontradas diversas células do sistema imunológico, tais como células dendríticas, células NK, macrófagos, neutrófilos, linfócitos T e B. Essas células são estimuladas com a interação das bactérias probióticas com as placas de Peyer (KREHBIEL et al., 2003; SAXELIN et al., 2005).

Em um estudo realizado por Cross (2002), foi demonstrado que os probióticos também podem estimular o sistema imune de forma sistêmica através de secreção de mediadores, devido à estimulação de células fagocíticas no sistema respiratório. Isolauri et al. (2001) relatam que a administração oral de *Lactobacillos sp* resultou no aumento da atividade fagocítica de células do sistema imune, bem como elevação na produção de imunoglobulina (IgA) e diminuição da produção de IgE em humanos e animais.

2.6.2 Efeitos dos probióticos em bezerros

Desde quando os bezerros começam a digerir quantidade significativa de nutrientes provenientes de dietas líquidas e concentrados no sistema gastrointestinal, passam a ser susceptíveis às proliferações de microrganismos prejudiciais. Isso se agrava quando passam por situações de estresse, como transporte, desaleitamento, ambientes inadequados e outros (DAVIS; DRACKLEY, 1998).

Em sistemas de produção intensiva, os bezerros são rapidamente separados das vacas, antes mesmo da microbiota intestinal estar completamente colonizada. Essa situação pode

aumentar a incidência de diarreia e de perda de peso. Nessa fase, o fornecimento de microrganismos benéficos ao animal pode possibilitar que o ambiente intestinal seja colonizado de forma adequada por microrganismos, fazendo com que o sistema gastrointestinal funcione de maneira mais adequada (KUNG JR., 2001).

Muitos estudos têm demonstrado que o fornecimento de probióticos é capaz de diminuir a incidência de diarreias, assim como melhorar o ganho de peso e a eficiência alimentar. O fornecimento de *Lactobacillus acidophilus* ajudou bezerros a manter o peso inicial até as duas semanas de idade, enquanto que os bezerros do tratamento controle apresentaram perda de peso (CRUYWAGEN; JORDAAN; VENTER, 1996); também foram observadas melhoras na eficiência alimentar e redução de incidência de diarreia (ABE; ISHIBASHI; SHIMAMURA, 1995) e menor incidência de diarreia provocada pela bactéria *Escherichia coli* (ELAM et al., 2003).

Em contrapartida, existem relatos na literatura de ausência de resultados positivos com o uso de probióticos, como no ganho em peso (GONÇALVES et al., 2000; GÖRGÜLÜ et al., 2003), redução da incidência de diarreia (GÖRGÜLÜ et al., 2003; GARCIA, 2008) e consumo de matéria seca (STEIN et al., 2006; RAETH-KINIG; LINN; JUNG, 2007).

Referências

ABE, F.; ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. Effect of administration of *bifidobacteria* and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 78, p. 2838-2846, 1995.

ALMOSNY, N. Equilíbrio ácido-básico em medicina veterinária. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p. 5-16.

ASSIS, A.J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, A.L.R.; MENDES NETO, J.; MENDONÇA, S.S.; SOARES, C.A. Polpa cítrica em dietas de vacas em lactação. 3. Consumo e efeito do período de coleta sobre a digestibilidade dos nutrientes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

AVERY, D.T. **Saving the planet with higher yields from 21st century farms**. St. Charles: ISEE, 2007. p. 1-11.

BARBOSA, A.P.; SZTAJNBOK, J. Distúrbios hidroeletrolíticos. **Jornal de Pediatria,** Rio de Janeiro, v. 75, supl. 2, S223-S233, 1999.

BENESI, F.J. Síndrome diarreia dos bezerros. **Revista CRMV-ES,** Vitória, v. 2, n. 3, p. 10-13, 1999.

BLASI, D.A.; DROUILLARD, J.; BROUK, M.J.; MONTGOMERY, S.P. **Corn gluten feed, composition and feeding value for beef and dairy cattle.** Manhattan: Kansas State University, Agricultural Experimental Station and Cooperative Extension Service, 2001. 14 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004**. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=133040692> Acesso em: 24 nov. 2012.

BREUKINK, H.J.; WENSING, T.; BUISMAN, A.V.W.K.; BRUINESSEN-KAPSENBERG, E.G.V.; VISSER, A.P.C. Consequences of failure of the reticular groove reflex in veal calves fed milk replacer. **The Veterinary Quarterly**. London, v. 10, n. 2, p. 126-135, 1988.

CHIODA, T.P.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; GARCIA, G.R.; PIGATTO, C.P.; RIBEIRO, C.A.M.; RAGAZZANI, A.V.F. Inibição do crescimento de *Escherichia coli* isolada de queijo “Minas Frescal” por *Lactobacillus acidophilus.* **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n. 2, p. 583-585, 2007.

COPPOLA, M.M.; TURNES, C.G. Probióticos e a resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1297–1303, 2004.

CROSS, M.L. Microbes vs. Microbes: imune signals generated by probiotic *Lactobacillus* and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 34, n. 4, p. 545-553, 2002.

CRUYWAGEN, C.W.; JORDAAN, I.; VENTER, L. Effect of *lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v.79, p. 483-486, 1996.

DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. p. 303-313.

DICKS, L.M.T.; BOTES, M. Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: health benefits, safety and mode of action. **Beneficial Microbes,** Wageningen, v. 1, n. 1, p. 11-29, 2010.

DURAN-SANDOVAL, D.; CARIOU, B.; PERCEVAULT, F.; HENNUYER, N.; GREFHORST, A.; VAN DIJK, T.H.; GONZALEZ, F.J.; FRUCHART, J.C.; KUIPERS, F.; STAELS, B. The farnesoid X receptor modulates hepatic carbohydrate metabolism during the fasting-refeeding transition. **The Journal of Biological Chemistry,** Bethesha, v. 280, p. 29971-29979, 2005.

ELAM, N.A.; GLEGHORM, J.F.; RIVERA, J.D.; GALYEAN, M.L.; DEFOOR, P.J.; RASHEARS, M.M.; YOUNTS-DAHL, S.M. Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains np45 and np51) and propionibacterium freudenreichii on performance, carcass, and intestinal characteristics, and *Escherichia coli* strain o157 shedding of finishing beef steers**. Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 2686-2698, 2003.

EWASCHUCK, J.B.; NAYLOR, J.M.; PALMER, R.; WHITING, S.J.; ZELLO, G.A. D-lactate production and excretion in diarrheic calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine,** Lawrence, v. 18, p. 744-747, 2004.

FAGAN, J.F.; DWYER, P.J.; QUINLAN, J.G. Factors that may affect the ocurrence of enteropathogens in the feces of diarrheic calves in Ireland. **Irish Veterinary Journal**, Dublin, v. 48, p. 12-17, 1995.

FIGUEIREDO, S.M.A.; MOURA, L. Os custos na produção conjunta das indústrias de beneficiamento de castanha de caju – Estado do Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CUSTOS, 10., 2002, São Paulo. **Anais...** São Paulo: FECAP, 2002. p. 101-108.

FRASER, T.; TILYARD, M. Complete blood count: in primary case. **BPAC Beter Medice,** Dunedin, v. 1, n. 1, p. 5-13, 2009.

FULLER, R. Probiotic in man and animals - a review. **Journal Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, p. 365-378, 1989.

FULLER, R.; BROOKER, B.E. Lactobacilli which attach to the crop epithelium of the fowl. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 27, p. 1305-1312, 1974.

GARCIA, G.R. **Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de *Bacillus subtilis* no desempenho de bezerros da raça holandesa**. 2008. 68p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, Jaboticabal, 2008.

GLABER, M.T.; TOZER, P.R.; HEINRICHS, A.J. Development of a cost analysis spreadsheet for calculating the costs to raise a replacement dairy heifer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 1104-1109, 2000.

GONÇALVES, G.D.; SANTOS, G.T.; RIGOLON, L.P.; DAMASCENO, J.C.; RIBAS, N.P.; VEIGA, D.R.; MARTINS, E.N. Influencia da adição de probióticos na dieta sobre o estado sanitário e desempenho de bezerros da raça Holandesa. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 231-238, 2000.

GÖRGÜLÜ, M.; SIUTA, A.; ÖNGEL, E.; YURTSEVEN, S.; KUTLU, H.R. Effect of probiotic on growing performance and health of calves. **Pakistan Journal of Biological Science**, Faisalabad, v. 6, n. 7, p. 651-654, 2003.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and tranport. **Journal of Animal Science,** Champaign, v. 75, n. 1, p. 249-257, 1997.

GUANDALINI, S.; VAZIRI, H. Diarrhea: diagnostic and therapeutic advances. In: WU, G.Y. **Clinical gastroenterology**. New York: Humana Press, 2011. p. 1-16.

HAGA, S.; FUJIMOTO, S.; YONEZAWA, T.; YOSHIOKA, K.; SHINGU, H.; KOBAYASHI, Y.; TAKAHASHI, T.; OTANI, Y.; KATOH, K.; OBARA, Y. Changes in hepatic key enzymes of dairy calves in early weaning production systems. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 91, n. 8, p. 3156-3164, 2008.

HEINRICHS, J. How disease, management, and nutrition of the calf may affecting first lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL LEITE INTEGRAL, 1., 2011, Belo Horizonte. **Anais…** Belo Horizonte: Revista Leite Integral, 2011. p. 36-41.

HEINRICHS, A.J.; KIERNAN, N.E.; GRAVES, R.E.; HUTCHINSON, L.J. Survey of calf and heifer management practices in Pennsylvania dairy herds. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v. 70, p. 896-904, 1987.

HEINRICHS, A.J.; HEINRICHS, B.S.; HAREL, O.; ROGERS, G.W; PLACE, N.T. A prospective study of calf factors affecting age, body size, and body condition score at first calving of Holstein dairy heifers. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 88, p. 2828-2835, 2005.

HILL, T.M.; BATEMAN II, H.G.; ALDRICH, J.M.; SCHLOTTERBACK, R.L. Effects of feeding different carbohydrate sources and amounts to young calves. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 91, p. 3128-3137, 2008.

HOFFMAN, P.C.; FUNK, D.A. Applied dynamics of dairy replacement growth and management. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 75, p. 2504-2516, 1992.

HOKAMA, N.H.; MACHADO, P.E.A. Interpretação clínica do hemograma nas infecções. **Jornal Brasileiro de Medicina,** Rio de Janeiro, v. 72, n. 3, p. 38-49, 1997.

HOLZAPFEL, W.; HABERER, P.; GEISEN, R.; BJÖRKROTH, J.; SCHILLINGER, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition, **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, p. 365S–373S, 2001.

HORNGREN, C.; FOSTER, G.; DATAR S.M. **Contabilidade de custos.** 9 ed. São Paulo: Atlas, 2000. 385 p.

ISOLAURI, E.; SÜTAS, Y.; KANKAANPÄÄ, P.; ARVILOMMI, H.; SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, p. 444-450, 2001.

JIN, L. Z.; MARQUARDT, R. R.; BAIDOO, S. K. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 5, p. 619-624, 2000.

JOHNSTON, R.; BUESNEL, D.; MORAN, J. **Growing heifers**. Sydney: NSW Agriculture, 2008. p. 1.1-3.6.

JONES, G.W.; RUTTER, J.M. Role of the K88 antigen in the pathogenesis of neonatal diarrhea caused by *Escherichia coli* in piglets. **Infection and immunity,** Washington, v. 6, n. 6, p. 918, 1972.

KASARI, T.R.; NAYLOR, J.M. Further studies on the clinical features and clinico-pathological findings of a syndrome of metabolic acidosis with minimal dehydration in neonatal calves. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 50, n. 4, p. 502–508, 1986.

KERTZ, A. Composition of bovine colostrum variable. **Feedstuff Journal,** Mason City, v. 80, p. 10-11, 2008.

KREHBIEL, C.R.; RUST, S.R.; ZHANG, G.; GILLILAND, S.E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 2, p. 120-132, 2003.

KUNG JR., L. Direct fed microbials and enzymes for ruminants. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 12., 2001. Gainesville. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 2001. p. 11-12.

LARSON, B.L.; HEARY, H.L.; DEVERY, J.E. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.63, p.665-671, 1980.

LATEUR-ROWET, H.J.M.; BREUKINK, H.J. The failure of the oesophageal groove reflex, when fluids are given with an oesophageal feeder to newborn and young calves. **The Veterinary Quarterly**, London, v. 5, n. 2, p. 68-74, 1983.

LEAL, M.L.R.; CYRILLO, F.C.; MORI, C.S.; MICHIMA, L.E.S.; NICHI, M.; ORTOLANI, E.L.; BENESI, F.J. Modelo de indução de diarréia osmótica em bezerros holandeses. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1650-1657, 2008.

LESMEISTER, K.E.; HEINRICHS, A.J. Effects of adding extra molasses to a texturized calf starter on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 411, 2005.

LILLY, D.M.; STILLWELL, R.H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. **Science Magazine,** Lancaster, v. 147, n. 3659, p. 747-748, 1965.

LOERCH, S.C.; FLUHARTY, F.L. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 5, p. 1113-1119, 1999.

LORENZ, I. Influence of D-lactate on metabolic acidosis and on prognosis in neonatal calves with diarrhea. **Journal of Veterinary Medicine. Series A. Physiology, Pathology, Clinical Medicine,** Berlin, v. 51, p. 425-428, 2004.

MACHADO, P.R.L.; ARAUJO, M.I.A.S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E.M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros de Dermatologia,** Rio de Janeiro, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.

MANTOVANI, H.C.; KAM, D.K.; HA, J.K.; RUSSEL, J.B. The antibacterial activity and sensitivity of *Streptococcus bovis* strains isolated from the rumen of cattle. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 37, p. 223-239, 2001.

MARTEL, C.A.; TITGEMEYER, E.C.; MAMEDOVA, L.K.; BRADFORD, B.J. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 94, p. 3995-4004, 2011.

MARTIN, S.A.; NISBET, D.J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1736-1744, 1992.

MELO, W.O. Utilização de subprodutos agroindustriais na alimentação de coelhos. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 8, n. 1, p. 1391-1400, 2001.

METZGER JR., F.L.; REBAR, A. Three-minute peripheral blood film evaluation: the leukon. **American Journal of Veterinary Medicine,** Chicago, v. 99, n. 12, p. 14-16, 2004.

MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhea. **Revue de Médecine Veterinaire**, Toulouse, v. 160, p. 404-409, 2009.

MOSCARDINI, M.C. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica e/ou farelo de glúten de milho em rações para bovinos terminados em confinamento.** 2008. p. 17-21. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição,** Campinas, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2001.

NAYLOR, J.M.; ZELLO, G.A.; ABEYSEKARA, S. Advances in oral intravenous fluid therapy of calves with gastrointestinal disease. In: WORD BUIATRICS CONGRESS, 24., 2006, Nice. **Proceedings…** Nice: Societé Française de Buiatrie, 2006. p. 139-150.

NETO, E.C.; ALVES, R.M.; SPIGOLON, Z.; FERREIRA, M.L.O. Linfócitos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária,** Garça, ano 7, n. 12, p. 17-25, 2009.

NUSSIO, C.M.B.; SANTOS, F.A.P.; PIRES, A.V.; BEM, M.; ZOPOLLATTO, M.; BARNABÉ, E.C. Efeito do processamento do milho e sua substituição por polpa de citros peletizada sobre consumo de matéria seca, produção e composição de leite de vacas em lactação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa, SBZ, 2000. 1 CD-ROM.

OMOLE, O.O.; NAPPERT, G.; NAYLOR, J.M.; ZELLO, G.A. Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 131, p. 2128–2131, 2001.

ORTOLANI, E.L. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p. 17-29.

PAES, P.R.O.; GONÇALVES, 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. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 305-312, 2012.

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 15, p. 303-326, 2001.

PLACE, N.T.; HEINRICHS, A.J.; ERB, H.N. The effects of disease, management, and nutrition on average daily gain of dairy heifers from birth to four months. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 83, p. 1004-1009, 1998.

QUIGLEY, J.D.; MARTIN, K.R.; BEMIS, D.A.; POTGIETER, L.N.; REINEMEYER, C.R.; ROHRBACH, B.W.; DOWLEN, H.H.; LAMAR, K.C. Effects of housing and colostrum feeding on the prevalence of selected infectious organisms in feces of Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 3124-3131, 1994.

RAETH-KNIGHT, M.L.; LINN, J.G.; JUNG, H.G. Effect of direct-fed microbials on performance, diet digestibility, and rumen characteristics of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 90, p. 1802-1809, 2007.

RAVARY-PLUMIOËN, B. Resuscitation procedures and life support of the newborn calf. **Revue de Médecine Veterinaire**, Toulose, v. 160, n. 8/9, p. 410-419, 2009.

RODRIGUES, R.R.; LUCCI, C.S.; RODRIGUES, P.H.M. Alimentação de bezerros ruminantes com dieta sólida ou líquida, via goteira esofageana: formação da goteira e escape ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 2364-2372, 2002.

ROGERS, L.A. The inhibiting effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus.* **Journal of Bacteriology,** Washington, v. 16, n. 5, p. 321–325, 1928.

ROY, J.H.B. **The calf**: management of health. London: Butterworths Publ., 1990. p. 1.

RUSSEL, J.B.; MANTOVANI, H.C. The bacteriocins of ruminal bacteria and their potential as an alternative antibiotics. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, San Diego, v. 4, p. 347-355, 2002.

SALMINEN, S.; ISOLAURI, E.; SALIMEN, E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 70, p. 347–358, 1996.

SAXELIN, M.; TYNKKYNEN, S.; MATTILA-SANDHOLM, T.; VOS, W. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 16, p. 1-8, 2005.

SCHALCH, F.J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; BRISOLA, M.L. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 30, n. 1, p. 280-285, 2001.

SCHULZ, D.; PEREIRA, M.A.; BONELLI, R.R.; NUNES, M.M.; BATISTA, C.R.V. Bacteriocinas: mecanismos de ação e uso na conservação de alimentos. **Alimentos e Nutrição,** Araraquara, v. 14, n. 2, p. 229-235, 2003.

SEO, J.K.; KIM, S.W.; KIM, M.H.; UPADHAYA, S.D.; KAM, D.K.; HA, J.K. Direct-fed microbials for ruminants animals. **Asian-Australasian Journal of Animal Science,** Koreak, v. 23, n. 12, p. 1657-1667, 2010.

SILVA, J.T.; BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S. Desempenho e desenvolvimento ruminal em resposta ao fornecimento de substâncias húmicas para bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce. Acta Scientiarum. **Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 395-401, 2011.

SNODGRASS, D.R.; TERZOLO, H.R.; SHERWOOD, D. Aetiology of diarrhea in young calves. **Veterinary Record**, London, v. 119, p. 31-34, 1986.

SOCKETT, D.C. D-Latic acidosis in dairy calves. In: SOUTHEAST DAIRY HERD MANAGEMENT CONFERENCE, 23., 2009, Macon. **Proceedings…** Macon: University of Georgia, 2009. p. 48-53.

STEIN, D.R.; ALLEN, D.T.; PERRY, E.B.; BRUNER, J.C.; GATES, K.W.; REHBERGER, T.G.; MERTZ, K.; JONES, D.; SPICER, L.J. Effects of feeding propionibacteria to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 111-125, 2006.

STOLTENOW, C.L.; VINCENT, L.L. **Calf scours:** causes, prevention, treatment. Fargo: Fargo Press, Noth Dakota State University, 2003. p. 300-303.

SUCASAS, L.F.A. **Avaliação do resíduo do processamento de pescado e desenvolvimento de co-produtos visando o incremento da sustentabilidade na cadeia produtiva.** 2011. p. 26-29. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

TEIXEIRA, F.A.; PIRES, A.V.; NASCIMENTO, P.V.N. Bagaço de cana-de-açúcar na alimentação de bovinos. REDVET. **Revista electrónica de Veterinaria**, Málaga, v. 8, n. 6, p. 1-9, 2007.

TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Editora Roca, 1998. p. 101-113.

TOULLEC, R.; GUILLOTEAU, P. Research into the digestive physiology of the milk-fed calf. In: NUTRITION AND DIGESTIVE PHYSIOLOGY IN MONOGASTRIC FARM ANIMALS. **Conference…** Wageningen: Pudoc, 1989. p. 37-55.

TOZER, P.R.; HEINRICHS, A.J. What affects the cost of raising replacement dairy heifers: a multiple-component analysis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 1836-1844, 2001.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Heifer calf health and management practices on u.s. dairy operations.** Fort Collins, 2007. p. 129-132.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Cattle and calves nonpredator death loss in the United States, 2010.** Fort Collins:, 2011. p. 11.18.

WALTNER-TOEWS, S.W.; MARTIN, S.W., MEEK, A.H. The effect of early calfhood health status on survivorship and age at first calving. **Canadian Journal of Veterinary Research,** Ottawa, v. 50, p. 314-317, 1986.

WILLETT, G.S. **The economics of home-grown versus custom-raised dairy replacement heifers**. Pullman: Washington State University, 1990. p. 09.

3 ESCORE FECAL E HEMOGASOMETRIA EM BEZERROS RECEBENDO CONCENTRADO INICIAL CONTENDO COPRODUTOS EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a severidade da acidose metabólica e outros sinais clínicos decorrentes da diarreia em bezerros em aleitamento, consumindo concentrado inicial contendo polpa citrica, melaço ou xarope de glicose em substituição ao milho. No primeiro experimento, 24 bezerros foram divididos em 3 tratamentos: 1) concentrado inicial controle a base de milho; 2) 50% de polpa cítrica (na MS) em substituição ao milho; 3) 100% de polpa cítrica (na MS) em substituição ao milho. No segundo experimento 32 bezerros foram divididos em 4 tratamentos: 1) concentrado inicial controle a base de milho e 0% de melaço; 2) 5% (na MS) de melaço em substituição ao milho; 3) 10% (na MS) de melaço em substituição ao milho; 4) 5% de xarope de glicose em substituição ao milho. Em ambos os experimentos, os animais foram alojados em abrigos individuais, com livre acesso à água e concentrado, recebendo 4 L de sucedâneo lácteo por dia. Após o diagnóstico de diarreia, foram realizadas durante os 3 primeiros dias avaliações do escore fecal, escore dos sinais clínicos e medição dos parâmetros fisiológicos, como frequência respiratória, frequência cardíaca e temperatura retal. Além disso, foram colhidas amostras de sangue, sempre 2 horas após o consumo de sucedâneo no período da manhã para determinação de: hemograma, análises gasométricas e eletrolíticas (pH sanguíneo, hemoglobina, ânion gap, excesso de bases, concentração plasmatica de sódio, potássio, cloreto, bicarbonato, PCO_2), e análises bioquímicas plasmáticas (glicose, proteínas totais, albumina, β-hidroxibutirato, uréia nitrogenada, lactato total, D- e L-lactato). Dados metereológicos e índices de conforto térmico também foram calculados. A adição crescente de polpa cítrica, melaço ou xarope de glicose no concentrado inicial não afetou de maneira negativa ($P>0,05$) o escore fecal, nem as características das fezes diarreicas e não provocou piora dos sinais clínicos consequentes da diarreia. De acordo com o leucograma, o aumento da contagem de leucócitos totais e neutrofilia observada indicam que as diarreias no rebanho experimental foram de origem infecciosa, não relacionadas ao consumo de coprodutos. Durante os três primeiros dias de diarreia, o eritrograma e as análises plasmáticas gasométricas, eletrolíticas e bioquímicas não resultaram ($P>0,05$) em desidratação, acidose ou qualquer outro distúrbio metabólico nos animais. Entretanto, o aumento de adição de melaço no concentrado teve efeito ($P<0,04$) no aumento do hematócrito dos animais, podendo então, ser um componente que favorece a desidratação de animais diarreicos. Os índices de conforto térmico tiveram grande influência nos parâmetros fisiológicos e quadros clínicos dos animais doentes. Como conclusão, a inclusão dos coprodutos das agroindústrias utilizados neste estudo em substituição ao milho no concentrado inicial não afetou o metabolismo dos animais em resposta a ocorrência de diarreias, podendo ser utilizados na alimentação sem prejudicar a saúde dos animais.

Palavras-chave: Alimentação; Bezerros; Distúrbio metabólico; Subproduto

Abstract

The objective of this study was to evaluate the severity of metabolic acidosis and other clinical signs resulting from diarrhea in milk-fed calves consuming starter feed containing citrus pulp, molasses or glucose syrup as a replacement for corn. In the first trial, 24 calves were distributed into three treatments: 1) control starter feed containing only corn, 2) 50% (DM) of citrus pulp replacing corn, 3) 100% (DM) of citrus pulp replacing corn. In the second trial, 32 calves were distributed into four treatments: 1) control starter feed containing corn (0% of molasses), 2) 5% (DM) of molasses replacing corn, 3) 10% (DM) of molasses replacing corn; 4) 5% glucose syrup replacing corn. In both experiments, the animals were housed in individual hutches, with free access to water and concentrate, and received 4 L/d of milk replacer. After the diagnosis of diarrhea evaluations of fecal score, score of clinical signs and measurement of physiological parameters (respiratory rate, heart rate and rectal temperature) were performed during three days. In addition, blood samples were collected (two hours after morning milk replacer feeding) for determination of white blood count (WBC), electrolytes and blood gases analysis (blood pH, hemoglobin, anion gap, base excess, plasmatic concentration of sodium, potassium, chloride, bicarbonate, PCO_2), as well as plasma biochemical analysis (glucose, total protein, albumin, β-hydroxybutyrate, urea nitrogen, lactate total D-and L-lactate). Meteorological data and thermal comfort indexes were also calculated. The increasing levels of of citrus pulp, molasses and glucose syrup in the starter feed had no negative effect (P>0.05) on fecal score, characteristics of diarrheic stools and on the agravation of diarrhea clinical signs. According to the WBC, the increased of total leukocytes and neutrophilia suggesting infectious diarrhea and rejecting the possibility that the consumption of coproducts in the starter feed were the etiology of diarrhea cases. During the first three days of diarrhea, the erythrogram, biochemical, blood gases and electrolytes data did not resulted (P>0.05) in dehydration, acidosis, or any other metabolic disturbance in animals. However, the increased addition of molasses in the concentrate had a negative effect (P<0.04) in hematocrit, being a component that may favors the dehydration in diarrheic animal. Thermal comfort indexes had great influence on clinical and physiological parameters on sick animals. As conclusion, the inclusion of co-products used in this study to replace corn in the starter feed did not affect the animals' metabolism in response to the occurrence of diarrhea, being an alternative without threateningthe health of dairy calves.

Keywords: Byproducts; Dairy calves; Metabolic disorders; Starter feed

3.1 Introdução

O avanço das técnicas de alimentação e manejo na pecuária leiteira, principalmente relacionada à criação de bezerros e novilha de reposição, tem levado pesquisadores a buscarem alternativas economicamente viáveis para essa exploração. Entretanto, deve-se ter cautela com a utilização de certos recursos direcionados à criação de bezerros. A criação de novilha de reposição em uma propriedade é responsável por grande parte dos custos, por isso, a utilização de qualquer recurso que traga diminuição destes custos sem prejudicar o desenvolvimento do animal é interessante (HOFFMAN; FUNK, 1992; TOZER; HEINRICHS, 2001).

A diarreia é uma das principais doenças que acometem bezerros e acarretam maiores gastos com medicação e perdas por mortalidade. Em geral, esta enfermidade está relacionada ao manejo inadequado e precárias condições de higiene alimentar e ambiental (BOTTEON et al., 2008). A diarreia neonatal ocorre como resultado da interação entre o bezerro, o meio ambiente, a nutrição e agentes infecciosos (HALL; JONES; MORGAN, 1992).

O fornecimento de concentrado inicial para bezerros em aleitamento é extremamente importante para o desenvolvimento do rúmen e consequente preparo do animal para o período após o desaleitamento. A composição de concentrados iniciais de bezerros é normalmente baseada na inclusão de milho e farelo de soja, com pequenas taxa de inclusão de ingredientes alternativos, sendo bastante comum a inclusão de farelo de trigo. A disponibilidade e menor preço de alguns coprodutos da agroindústria permitem o balanceamento de concentrados iniciais com o mesmo valor energético, no entanto pouco se sabe sobre o aproveitamento deste pelos animais, além da possibilidade de ocorrência de diarreias.

Nos últimos anos, a utilização de subprodutos, como a polpa cítrica na alimentação de bezerros, como recurso para diminuir custos, tem sido cada vez maior. Entretanto, apesar de já haver vários estudos relacionando a utilização deste recurso no desempenho animal com animais em lactação (LEIVA; HALL; VAN HORN, 2000; NUSSIO et al., 2000; ASSIS et al., 2001; MIRON et al., 2002; BAMPIDIS; ROBINSON, 2006), há poucos estudos sobre seu efeito no desempenho de animais jovens, assim como sua influência em distúrbios metabólicos. A inclusão de polpa cítrica na alimentação de bezerros muito jovens pode ser prejudicial, devido a sua incapacidade do organismo do animal em digerir a pectina. Concentrados contendo polpa cítrica podem aumentar a morbidade ocasionada por diarreia devido a causas nutricionais, e ainda, aumentar a severidade clínica da mesma.

Outro co-produto que pode ser utilizado como alternativa à inclusão de milho em concentrados iniciais é o melaço. O melaço líquido é habitualmente utilizado em rações para animais como recurso para melhorar a palatabilidade e dar melhor consistência a ração através da aglomeração do pó (MORALES; VAN HORN; MOORE, 1989).

Segundo estudos realizados por Brown, Phillips e Jones (1987) e Brown e Johnson (1991), a inclusão de 10 a 20% de melaço em dietas com alta proporção de forragem, aumentou o consumo de matéria seca ou matéria original de animais ruminantes adultos. Em contrapartida, resultados são diferentes em vacas leiteiras quando a inclusão de melaço é feita em rações ricas em concentrado, contendo forragens de alta qualidade ou em situações onde o concentrado e o volumoso são fornecidos separadamente. Estes dados sugerem que a qualidade da dieta influencia a alteração observada no consumo com a adição de melaço (LOFGREEN; OTAGAKI, 1960; KOMKRIS; STANLEY; MORITA, 1965; MORALES; VAN HORN; MOORE, 1989).

Em bezerros com aproximadamente um ano de idade, a suplementação de melaço aumentou os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, energia bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. Além disso, todos os níveis de melaço (25, 30, 35 e 40%) utilizados apresentaram aumento do consumo de matéria seca total, proteína bruta total e matéria orgânica digestível (FREITAS et al., 2003). Entretanto, outros estudos feitos com inclusão de melaço na ração de novilhas em substituição ao milho como fonte alternativa de energia, apresentaram resultados negativos em relação à digestibilidade de proteína, matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo e fibra bruta (BOHMAN et al., 1954), Todavia, estudos sobre a inclusão de melaço da cana em rações iniciais para bezerros durante as primeiras semanas de vida não possuem resultados muitos conclusivos. De acordo com um estudo realizado por Lesmeister e Heinrichs (2005), a inclusão de 12% de melaço (baseado na MS) no concentrado inicial não resultou em diferenças significativas no peso corporal dos animais, na ingestão de matéria seca, no ganho de peso médio diário ou na eficiência alimentar no período de aleitamento em comparação ao grupo controle que recebeu 5% de melaço (baseado na MS). Entretanto, no período pós-aleitamento, a inclusão de melaço, principalmente na taxa de inclusão de 12% na matéria seca total, reduziu o consumo de matéria seca total, o ganho de peso diário e o ganho médio diário do perímetro torácico, muito embora o consumo de energia não tenha sido afetado.

Estudos com fornecimento de concentrado inicial contendo diferentes níveis de inclusão de melaço e também de xarope de glicose para bezerros neonatos são escassos. Nesse período esses animais são muito suscetíveis a moléstias do trato gastrointestinal, uma vez que

não são capazes de digerir certos tipos de alimentos, devido à ausência ou pouca produção de certas enzimas e também devido à microflora pouco desenvolvida presente no trato digestório desses animais (TOULLEC; GUILLOTEN, 1989).

O fornecimento de concentrados iniciais para bezerros em idades bem jovens tem como objetivo a viabilização do desaleitamento precoce, o que resulta em redução do custo do animal uma vez que a dieta líquida representa em torno de 70% dos custos de criação de bezerras Isso ocorre por que o fornecimento de alimentos sólidos, principalmente concentrado, está diretamente relacionado com o desenvolvimento fisiológico do rúmen. Este desenvolvimento é consequência do aumento da concentração de AGCC, que são absorvidos pelo tecido epitelial de revestimento do rúmen, resultando num melhor desenvolvimento das papilas (WILLET, 1990; ASSANE; DARDILLAT, 1994).

Assim, o objetivo deste estudo foi verificar se substituição de milho por co-produtos como polpa cítrica, melaço ou xarope de milho no concentrado inicial para bezerros pode provocar efeitos negativos relacionado à moléstias gastrointestinais e distúrbios metabólicos como desidratação e acidose metabótica.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Ambiente e instalações

Os experimentos foram conduzidos no Bezerreiro Experimental do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", ESALQ-USP, situado na cidade de Piracicaba, estado de São Paulo, Brasil. A área experimental utilizada (Figura 3.1) era de terreno plano e com gramado.

Figura 3.1 - Área experimental na ESALQ-Piracicaba, onde os experimentos foram realizados

Foram executados dois experimentos relacionados à inclusão de coprodutos da agroindústria, o primeiro, com inclusão de polpa cítrica no concentrado em substituição ao milho, foi realizado no período de dezembro de 2011 a março de 2012; o segundo, com inclusão de melaço ou xarope de glicose no concetrado em substituição ao milho, foi realizado entre março a junho de 2012. Dados climáticos foram colhidos do posto meteorológico da ESALQ-USP, que utiliza uma estação automática acoplada a um datalogger – CR10X, que armazena os dados de 15 em 15 minutos. Dados do ambiente foram analisados diariamente, tais como: temperaturas máxima, mínima e média, umidade relativa do ar máxima, mínima e média, velocidade média do vento e índice pluviométrico, durante todo o período em que os experimentos foram conduzidos. Para avaliar se os animais passaram por estresse térmico devido ao ambiente, foram calculados os Índices de Temperatura e Umidade (ITU) definido por Thom (1959) e o Índice de Temperatura Equivalente (ITE) desenvolvido por Baeta et al. (1987).

3.2.2 Manejo dos animais

Após o nascimento, os bezerros receberam colostro na quantidade de 4 litros/animal/dia, em duas refeições diárias, até o segundo dia de vida. Os animais foram transportados para o bezerreiro experimental da ESALQ-USP com idade média de 1 semana de vida.

No campo experimental, os animais foram contidos por meio de correntes de 1,80 m de comprimento, fixadas ao solo em uma das extremidades e acopladas a uma coleira, de modo a impedir o contato físico entre os bezerros. Os abrigos individuais móveis eram de estrutura de madeira e cobertura de zinco, com suporte para comedouro e balde para água, sendo mudados de local diariamente com o intuito de manter o animais sempre em local limpo, longe de fezes. Os abrigos foram dispostos em local plano com gramado, orientados com a lateral sentido leste-oeste para sempre possuir sombra disponível ao alcance dos animais nas laterais dos abrigos.

O acesso a água foi *ad libitum* e o fornecimento de sucedâneo foi na quantidade de 4 litros por dia (baseado na média de igual ou aproximadamente 10% peso corporal ao nascer), divididos em duas refeições, no começo da manhã e no final da tarde. O concentrado inicial farelado formulado conforme o tratamento experimental proposto foi fornecido *ad libitum*, não ultrapassando o consumo de 2 kg/dia. O desaleitamento dos animais foi realizado de forma abrupta na 8ª semana de vida.

3.2.3 Composição dos concentrados iniciais conforme tratamentos propostos

3.2.3.1 Experimento I: Avaliação de polpa cítrica como alternativa ao milho no concentrado inicial de bezerros leiteiros

Foram utilizados 24 bezerros machos da raça Holandês, com idade inicial média de 2 semanas de idade e peso corporal ao nascer de 39 quilos, distribuídos em blocos de acordo com o peso ao nascer e a data de nascimento e distribuídos entre os diferentes tratamentos, de acordo com a inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial em substituição ao milho (Tabela 3.1):

1) Concentrado inicial controle a base de milho;
2) Concentrado inicial com associação de 50% milho e 50% polpa cítrica;
3) Concentrado inicial contendo 100% de polpa cítrica e 0% de milho.

Tabela 3.1 - Ingredientes e composição químico-bromatológica do concentrado inicial com diferentes níveis de polpa cítrica

Ingredientes, % MS	**Tratamentos**		
	0%PC	**50%PC**	**100%PC**
Milho moído	64,0	32,0	0,0
Polpa cítrica	0,0	32,0	64,0
Farelo de soja	26,0	28,0	28,0
Farelo de trigo	6,0	5,5	7,0
Calcário calcítico	3,0	1,5	0,0
Premix mineral/vitamínico[(1)]	1,0	1,0	1,0
Composição química			
Matéria seca, %	89,9	90,5	90,9
Matéria mineral, % MS	5,88	7,3	9,4
Proteína bruta, % MS	20,6	20,7	19,5
Extrato etéreo, % MS	3,4	3,0	2,8
Fibra em detergente neutro (FDN), % MS	13,4	17,7	21,7
Fibra em detergente ácido (FDA), % MS	7,5	11,2	17,3
Lignina, % MS	0,66	1,30	1,87
Carboidratos não fibrosos, % MS	56,7	51,3	46,6
Nutrientes digestíveis totais, % MS	82,72	77,20	73,61
Energia metabolizável, (Mcal/kg MS)[(2)]	2,94	2,97	2,96
Energia líquida ganho, (Mcal/kg MS)[(2)]	1,36	1,37	1,35
Cálcio, % MS[(2)]	1,40	1,43	1,49
Fósforo, % MS[(2)]	0,41	0,41	0,36

[(1)] Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 16,8%; P 4,2%; S 2,3%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,4; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.
[(2)] Valor estimado pelo NRC (2001)

3.2.3.2 Experimento II: Avaliação de diferentes níveis de melaço e xarope de glicose como alternativa ao milho no concentrado inicial de bezerros leiteiros

Foram utilizados 32 bezerros machos da raça Holandês, divididos em blocos de acordo com o peso ao nascer e a data de nascimento e distribuídos entre os diferentes tratamentos, de acordo com a inclusão de melaço ou xarope de glicose em substituição ao milho no concentrado inicial (Tabela 3.2):

1) Concentrado inicial controle a base de milho, sem adição de melaço (na MS);

2) Concentrado inicial com inclusão de 5% de melaço (na MS);

3) Concentrado inicial com inclusão de 10% de melaço (na MS);

4) Concentrado inicial com inclusão de 5% de xarope de glicose (na MS).

Tabela 3.2 - Ingredientes e composição químico-bromatológica do concentrado inicial com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

Ingredientes, % MS	**Tratamentos**			
	0%ME	**5%ME**	**10%ME**	**5%XA**
Milho moído	65	60	55	60
Farelo de soja	24	24	23	24
Melaço de cana	0	5	10	0
Xarope de glicose	0	0	0	5
Casca de soja	10	10	11	10
Premix mineral/vitamínico[(1)]	1	1	1	1
Composição química				
Matéria seca, %	88,0	87,4	87,8	87,9
Matéria mineral, % MS	4,22	4,66	4,65	4,12
Proteína bruta, % MS	19,6	19,9	19,3	19,5
Extrato etéreo, % MS	4,11	4,06	3,40	3,89
Fibra em detergente neutro, % MS	16,4	18,8	18,7	16,9
Fibra em detergente ácido, % MS	9,4	10,8	11,5	10,3
Lignina, % MS	0,75	0,72	0,94	0,82
Carboidratos não fibrosos, % MS	55,7	52,6	54,0	55,6
Energia metabolizável, (Mcal/kg MS)[(2)]	3,00	3,00	2,98	3,00
Energia líquida ganho, (Mcal/kg MS)[(2)]	1,93	1,92	1,91	1,92
Cálcio, % MS[(2)]	0,4	0,4	0,5	0,4
Fósforo, % MS[(2)]	0,3	0,3	0,4	0,2

[(1)] Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 16,8%; P 4,2%; S 2,3%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,4; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.
[(2)] Valor estimado pelo NRC (2001)

3.2.4 Avaliação de escore fecal

Foram realizadas diariamente no período de manhã, as avaliações do escore fecal de todos os animais conforme Larson et al. (1977), sendo classificadas conforme a fluidez: (1) quando normais e firmes; (2) quando com consistência pastosa porém com aspecto geral saudável; (3) quando com consistência aquosa considerada diarreia; (4) quando com consistência fluída.

Para os animais que apresentaram mudanças no escore fecal, utilizou-se o seguinte protocolo prático de manejo: o escore fecal até 2 foi considerado normal, a partir do escore 3, foi considerado quadro de diarreia. Após a observação da incidência de diarreia, os animais ficaram por 24 horas em observação, caso não houvesse reversão do quadro o animal era submetido por um período de 3 dias à várias análises descritas a seguir.

Durante os três primeiros dias após o diagnóstico de diarreia foram caracterizados vários aspectos das fezes como coloração, consistência e componentes conforme Larson et al. (1977). As fezes foram classificadas de acordo com sua fluidez (1; normal; 2: mole; 3: aquosa; 4: fluida); severidade; coloração das fezes (a: branca/amarelada; b: cinza; c: amarelo; d: marrom; e: vermelha/rósea; f: verde/verde escuro; g: muito escura/preta); consistência (a: normal; b: espumosa; c: com muco; d: grudenta; e: muito firme); odor (a: normal; b: ligeiramente ofensivo; c: altamente ofensivo).

3.2.5 Avaliação dos sinais clínicos

Durante os 3 primeiros dias após o diagnóstico de diarreia foram aferidas a temperatura retal, frequência cardíaca e frequência respiratória, no período de manhã às 7:00 horas, no período do meio-dia e no final da tarde às 19:00 horas. Também foi realizado um sistema de escore de sinais clínicos em bezerros com diarreia conforme o Tabela 3.3 adaptado de Kasari; Naylor (1986). Foram mensuradas e levadas em consideração a temperatura do ambiente, a umidade relativa do ar e a velocidade do vento, já que os índices de conforto térmico interferem nos parâmetros fisiológicos.

Tabela 3.3 - Sistema de escore de sinais clínicos em bezerros com diarreia, adaptado de Kasari e Naylor (1986)

Variável	Método de avaliação	Pontuação[a]	Interpretação
Reflexo de mamada	Colocar o dedo na boca	0 1 2 3	Mamada forte e coordenada Mamada fraca e coordenada Mastigação desorganizada Ausente
Reflexo de ameaça	Movimentos bruscos em direção aos olhos	0 1 2	Reflexo instantâneo Reflexo atrasado Reflexo ausente
Resposta tátil	Pressão na área lombar	0 1 2	Contração muscular e movi-mento da cabeça Contração muscular sem movimento da cabeça Sem contração muscular e sem movimento da cabeça
Capacidade de reação	Cutucar a costela com uma caneta	0 1	Capacidade de reação Incapacidade de reação
Calor da cavidade oral	Tocar o palato	0 1 2	Mucosa com calor normal Mucosa com calor diminuido Mucosa fria
Calor das extremidades	Apalpar a região do boleto	0 1 2	Membro com calor normal Membro com calor diminuido Membro gelado

[a]A pontuação para cada variável é adicionada para se obter uma pontuação mínima de zero em bezerros saudáveis e uma pontuação máxima de 12 em bezerros debilitados apresentando sinais clínicos ruins

3.2.6 Cálculos de índice de conforto térmico

3.2.6.1 Cálculo do ITU

O índice de temperatura e umidade (ITU) foi calculado a partir da média da temperatura ambiente e da umidade relativa do ar. Também foi calculado o ITU nos períodos mais quentes dos dias, com a finalidade de verificar o ápice de estresse térmico passado pelos animais. O ITU foi definido por THOM (1959), através da seguinte equação:

$$\mathbf{ITU= (0,8 \times T + (UR/100) \times (T-14,4) + 46,4)}$$

Onde:

T = temperatura ambiente (ºC);

UR = umidade relativa do ar (%).

3.2.6.2 Cálculo do ITE

O índice de temperatura equivalente (ITE) desenvolvido por BAETA et al. (1987) foi calculado através da seguinte equação:

$$\mathbf{ITE = 27{,}88 - 0{,}456.t + 0{,}010754.t^2 - 0{,}4905.h + 0{,}00088.\ h^2 + 1{,}1507.v - 0{,}126447.v^2 + 0{,}019876.\ t\ (h) - 0{,}046313.\ t\ (v)}$$

Onde:

t = temperatura ambiente (ºC);

h = umidade relativa do ar (%).

v = velocidade do ar (m/s).

3.2.7 Coleta de sangue e metodologia

Nos primeiros três dias após o diagnóstico de diarreia foram colhidas amostras de sangue diariamente, sempre duas horas após o consumo de sucedâneo lácteo durante o período da manhã. Utilizou-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como anticoagulante e também um tubo vacuolizado contento heparina sódica.

As amostras de sangue do tubo contendo fluoreto de sódio e EDTA foram centrifugadas a 2000 x *g*, durante 20 minutos, à temperatura de 4ºC. O plasma foi separado por pipetagem e armazenado em microtubos, posteriormente mantidos em freezer para posterior determinação de glicose, proteínas totais, albumina, lactato total, L-lactato, D-lactato e β-hidroxibutirato.

As amostras do tubo contendo fluoreto de sódio e EDTA foram utilizadas para realizar o hemograma e determinar hematócrito (volume globular), eritrócitos totais, VGM, leucócitos totais e leucócitos diferenciais.

As amostras dos tubos contendo heparina sódica foram utilizadas para determinar a gasometria e concentrações de sódio (Na), potássio (K), cloreto (Cl), pH sanguíneo, PCO_2, Uréia Nitrogenada (NUP), Hemoglobina (Hb), HCO_3^-, BE_{ecf} (excesso de bases) e ânion gap, além de glicose e hematócrito (Hct%).

3.2.8 Análises bioquímicas plasmáticas

3.2.8.1 Determinação de glicose

As concentrações de glicose foram determinadas utilizando-se o kit enzimático GLICOSE HK LIQUIFORM – Ref.:85 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 505 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Uma alíquota de 4µL de regente fornecido pelo kit. Após período de incubação de 10 minutos, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose plasmático em mg/dL. Para calibração do equipamento, solução padrão fornecida com kit enzimático com concentração de 100 mg/dL de glicose foi analisada a cada rodada.

3.2.8.2 Determinação de proteínas totais

As concentrações de proteínas totais foram determinas a partir do kit enzimático PROTEÍNAS TOTAIS – Ref: 99-250 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 540 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (Figura 3.4) (CELM, Barueri, SP, Brasil). O método reagente de Biureto pipetado na amostra (relação amostra/reagente: 1:51) ou solução padrão (4g/dL) incubados a 37ºC por 10 minutos. Após o período de incubação, as reações das amostras com o reagente formaram um composto de cor púrpura, cuja absorbância foi proporcional à concentração de proteínas da amostra.

3.2.8.3 Determinação de albumina

As concentrações de albumina foram determinas a partir do kit enzimático ALBUMINA – Ref: 19 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 620 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). O método utiliza reagente de cor pipetado na amostra (relação amostra/reagente: 1:101) e após o período de incubação, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de albumina plasmática em g/dL.

3.2.8.4 Determinação de β-hidroxibutirato

A determinação de β-hidroxibutirato foi realizada utilizando-se kit enzimático RANBUT – Ref.: RB1007 (RANDOX Laboratories – Life Sciences Ltd., Crumlin, UK), utilizando-se filtro de absorbância de 340 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizado para calibração do equipamento solução padrão fornecida com o kit com concentração de 1,000 mmol/L. Uma alíquota de 12,5 µL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 500 µL de reagente enzimático, seguida por leitura no aparelho após 1 minuto para obtenção da absorbância inicial. Após incubação por mais 2 minutos, foi realizada nova leitura de amostra. A diferença entre as leituras inicial e final foi utilizada para construção da curva de regressão e obtenção dos resultados.

3.2.8.5 Determinação de lactato total

As análises de concentrações de lactato total plasmático foram realizadas a partir da metologodia descrita por Pryce (1969). Em tubos de ensaio com 3,95 mL de reagente precipitante (10 g de tungstato de sódio (Na_2O_4W) + 22 mL de ácido ortofosfórico 90% (H_3PO_4) + 5 g de sulfato de cobre ($CuSO_4.7H_2O$) + 1 L de água destilada) foram colocados 50 µL de plasma sanguíneo, e foram agitados por aproximadamente 5 segundos e centrifugados por 5 minutos a 2.000 x *g*. Em seguida, 1 mL do sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio e, de forma rápida, 6 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) foram adicionados em cada tubo, sendo novamente agitados por 10 segundos. Após a agitação, os tubos foram resfriados em água corrente e adicionados 100 µL de reagente de coloração (1,5 g de p-hidroxibifenil em 100 mL de dimetilformamida, em balão de 100 mL), agitados e deixados em repouso por 10 minutos. Na etapa seguinte, os tubos foram transferidos para banho-maria com água fervente por 90 segundos, resfriados em água corrente e levados a espectrofotômetro para leitura de absorbância utilizando-se filtro de comprimento de onda de 565 nm. As soluções padrão foram obtidas através de diluição seriada da solução inicial de 4,0 mg/dL (2,13 g de lactato de lítio + 5 mL de H_2SO_4 + 500 mL de água destilada) e utilizadas na construção de curva padrão com as concentrações de 0; 0,25; 0,50 e 1,0 mg/mL.

3.2.8.6 Determinação de L-lactato

As concentrações de L-lactato plasmático foram determinas a partir do kit enzimático LACTATO liquiform – Ref: 116 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 550 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). O método utiliza reagente fornecido pelo kit pipetado na amostra (relação amostra/reagente: 1:81) ou solução padrão (40mg/dL), após o período de incubação, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de lactato plasmático em mg/dL.

3.2.8.7 Determinação de D-lactato

A determinação de D-lactato foi obtida pela diferença do resultado de lactato total do plasma (mg/dL) com o resultado de L-lactato plasmático (mg/dL).

3.2.9 Análises gasométricas e eletrolíticas

Para determinação da gasometria foi utilizado um analisador sanguíneo portátil i-Stat® com bateria (9v), o qual determina o resultado quantitativo das análises em aproximadamente 2 minutos. Para cada amostra de sangue, imediatamente após a coleta, foi pipetada 75 µL de amostra na cavidade do cartucho descartável e então inserido no analisador portátil para as análises. O cartucho utilizado foi o modelo i-Stat® Cartridge ***EC$_8$+*** - Ref: ECO, que consiste de um chip biossensor eletroquímico que realiza testes para Na (mEq/L), K (mEq/L), Cl (mmol/L), glicose (mg/dL), pH, PCO_2 (pressão parcial de dióxido de carbono, mmHg) e NUP (mg/dL) e Hct (%) no sangue total.

Desses valores medidos, são determinados valores para HCO_3^- (mmol/L), BE_{ecf} (excesso de bases, mmol/L), Ânion Gap (mmol/L) e Hb (g/dL).

Para cada cartucho a composição de reagentes é: Na^+ (134 mmol/L), K^+ (4 mmol/L), Cl^- (101 mmol/L), glicose (7 mmol/L), uréia (4 mmol/L), CO_2 (28 mmHg), pH (7,4), glicose oxidase (0,002-0,004 UI), urease (0,09-0,57 UI).

3.2.10 Hemograma

3.2.10.1 Determinação do hematócrito

Amostras de sangue venoso coletadas com tubos vacuolizados contendo anticoagulante EDTA foram utilizadas para preencher em torno de ¾ dos tubos capilares sem heparina, e em seguida uma das extremidades foi vedada.

Os tubos capilares foram centrifugados em centrífuga de microhematócrito - Modelo SPIN 1000 (MICROSPIN), a 12.000 x *g*, durante 10 minutos. Após centrifugação foram feitas leituras dos tubos capilares em régua própria para hematócrito, sendo o resultado expresso em porcentagem (%).

3.2.10.2 Determinação de contagem total de eritrócitos

Foram diluídos 20 µL da amostra de sangue em 4 mL no Líquido de Hayem (proporção de 1:200), sendo a mistura homogeneizada cuidadosamente. Uma pequena quantidade dessa amostra diluída foi pipetada na abertura lateral da câmara de Neubauer espelhada, fazendo o líquido penetrar por capilaridade entre a câmara e a lamínula. A câmara de Neubauer foi mantida num ambiente úmido durante 5 minutos, para permitir a perfeita sedimentação dos eritrócitos no fundo da câmara.

Através de um microscópio, foram feitas as contagens em cinco quadrantes menores localizados no centro da área marcada da câmara de Neubauer, sendo determinada a quantidade de hemácias/µL pela seguinte equação:

$$\textbf{Hemácias/µL} = \textbf{$\sum$q . 5 . 10. 200}$$

Onde:

$\sum$q = soma da contagem de eritrócitos de 5 quadrantes da câmara de Neubauer.

3.2.10.3 Determinação de VGM

O volume globular médio (VGM) no hemograma é a média dos volumes das hemácias. Foi calculado pela seguinte equação, sendo o resultado dado em μm^3:

$$\textbf{VGM = hct . [10/(cte/1000000)]}$$

Onde:

hct = hematócrito (%)

cte = contagem total de eritrócitos/mL

3.2.10.4 Determinação de contagem total de leucócitos

Foram diluídos 20 µL da amostra de sangue em 0,4 mL no Líquido de Turk (proporção de 1:20), sendo a mistura homogeneizadas cuidadosamente. Uma pequena quantidade dessa amostra diluída foi pipetada na abertura lateral da câmara de Neubauer espelhada, fazendo o líquido penetrar por capilaridade entre a câmara e a lamínula. A câmara de Neubauer foi mantida num ambiente úmido durante 5 minutos, para permitir a perfeita sedimentação dos leucócitos no fundo da câmara.

Utilizando um microscópio, foram feitas as contagens nos quatro quadrantes localizados nas extremidades da área marcada da câmara de Neubauer, sendo determinada a quantidade leucócitos/µL pela seguinte equação:

$$\textbf{Leucócitos/µL} = (\sum q / 4) \,.\, 10 \,.\, 20$$

Onde:

$\sum q$ = soma da contagem de leucócitos dos 4 quadrantes da extremidade da câmara de Neubauer.

3.2.10.5 Determinação de contagem diferencial de leucócitos

Foram confeccionados esfregaços sanguíneos utilizando-se corante de Wright.

Para contagem diferencial dos leucócitos, foi utilizado um microscópio com a lente objetiva de imersão, contando-se 100 leucócitos percorrendo-se as bordas laterais das lâminas em trajeto de “zig-zag”. Os leucócitos foram diferenciados através da morfologia das células, sendo a contagem realizada com auxílio de um contador diferencial de Células – Modelo CP 2100 (PHOENIX), A contagem diferencial de leucócitos foi calculada em valores absolutos (tipo de leucócito/µL de sangue) e valores relativos (tipo de leucócito em % relativo a contagem total de leucócitos/µL).

3.2.11 Análises estatísticas

Para dividir os animais entre os tratamentos, baseou-se em delineamento experimental divididos em blocos ao acaso, de acordo com o peso ao nascer e data de nascimento do animal. Para as variáveis binomiais, foi utilizado a técnica de modelos lineares generalizados, com função de ligação logit (GLIMMIX). Para avaliar os dados dos parâmetros sanguíneos e avaliações clínicas foram analisados em delineamento fatorial com auxílio do procedimento

MIXED do pacote estatístico SAS (versão 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme os seguintes modelos:

$$(1)\quad Yijk = \mu + Ti + Ij + TIij + Eijk$$

Onde,
Yijk = variável resposta;
μ = média geral;
Ti = efeito do tratamento (0%PC, 50%PC, 100%PC e 0%ME, 5%ME, 10%, 5%XA);
Ij = efeito dos dias avaliados (3 dias);
TIij = efeito de interação entre tratamento e dias avaliados;
Eijk = efeito devido ao acaso (resíduo).

$$(2)\quad Yijk = \mu + Ti + Ij + TIij + Hk + Eijk$$

Onde,
Yijk = variável resposta;
μ = média geral;
Ti = efeito do tratamento (0%PC, 50%PC, 100%PC e 0%ME, 5%ME, 10%, 5%XA);
Ij = efeito dos dias avaliados (3 dias);
Hk = efeito dos horários avaliados (7:00h, 12:00h, 19:00h)
TIij = efeito de interação entre tratamento e dias avaliados;
Eijk = efeito devido ao acaso (resíduo).

Para efeito de comparação de médias foi utilizado o teste t de Student, sendo as médias estimadas através do método dos quadrados mínimos, com nível de significância de 5%.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Dados meteorológicos e índices de conforto térmico

Fatores ambientais como a temperatura do ambiente e a umidade relativa do ar, em valores fora do padrão de conforto, podem afetar de maneira negativa, os índices zootécnicos, devido ao estresse ocasionado aos animais (MAGALHÃES et al., 1998). Segundo Berman et

al. (1985), para animais leiteiros temperaturas acima de 26ºC são consideradas como temperatura ambiente crítica superior, provocando queda no desempenho dos animais. Para bezerros, essa temperatura crítica superior (TCS) é de 25ºC e a temperatura crítica inferior (TCI) é de 13º C (SILVA, 2000).

Durante o período de experimento, nos meses de maio e junho de 2012 a temperatura crítica inferior (abaixo de 13ºC) foi atingida. A temperatura crítica superior (acima de 25ºC), também foi constatada em todos os meses de experimento conforme mostra a Figura 3.2, significando que os animais podem ter sofrido estresse devido ao calor durante o período experimental. Porém, levando em consideração a média geral da temperatura do ar, pode-se dizer que todos os meses foram em geral, bons para os animais.

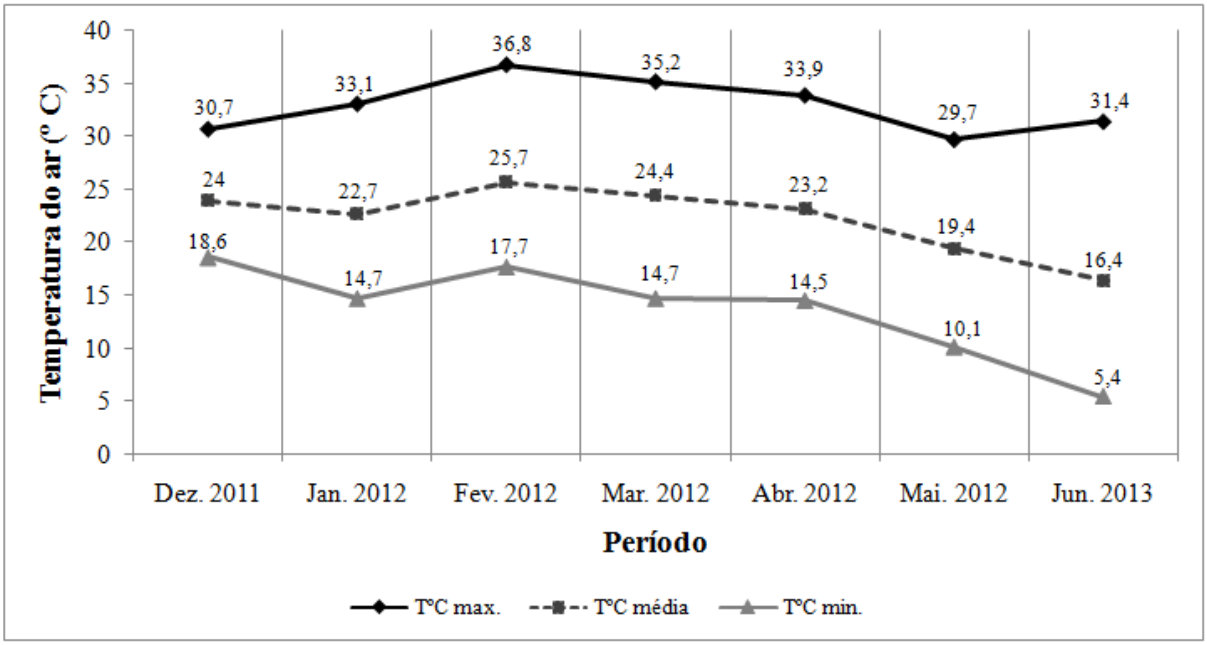

Figura 3.2 - Temperatura ambiente (ºC) máxima, média e mínima durante o período experimental

Dados relacionados à precipitação (Figura 3.3) demonstram maior incidência de chuvas nos meses de dezembro de 2011 e janeiro de 2012. Segundo Stull et al (2008), a precipitação é um dado importante quando se fala em mortalidade de bezerros, sendo que em regiões chuvosas a mortalidade diminui 16,9% em relação a regiões áridas. Entretanto, Azzam et al. (1993) evidencia que pode haver efeitos negativos relacionado ao aumento da precipitação em períodos em que a temperatura ambiente é baixa. No caso do Brasil, a alta precipitação, aliada a altas temperaturas, resulta em índice de temperatura equivalente (ITE) não favoráveis aos animais, reduzindo o conforto do animal, além de aumentar os problemas sanitários do rebanho.

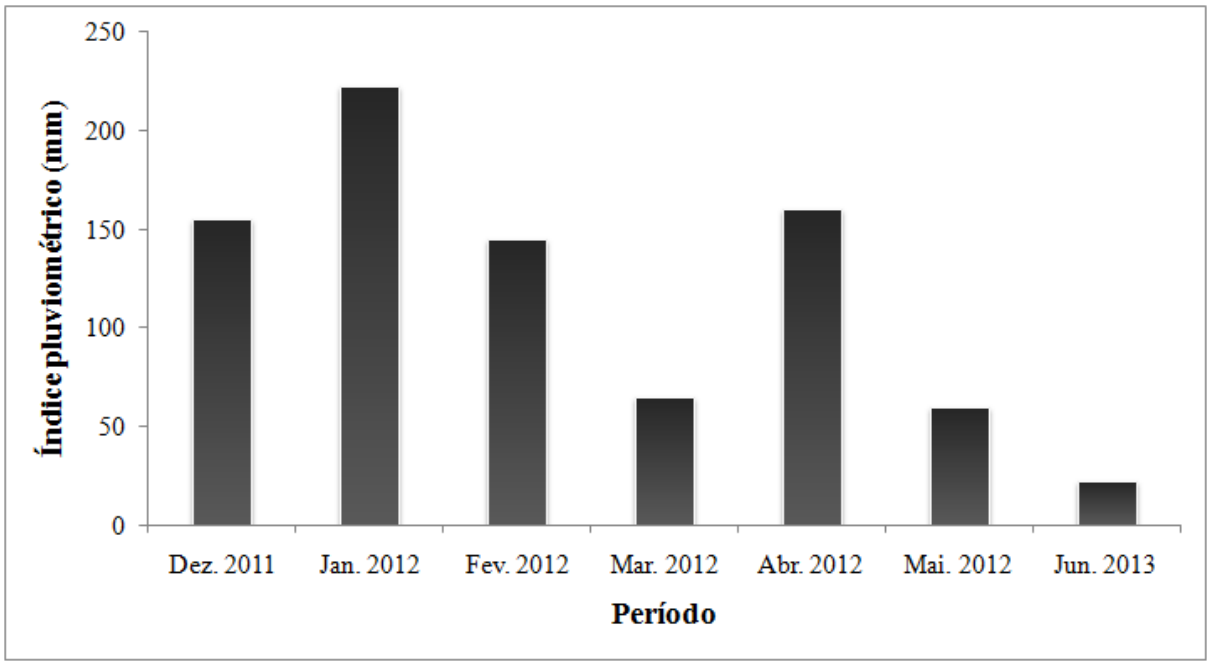

Figura 3.3– Índice pluviométrico (mm) durante o período experimental

Os índices de conforto térmico combinam dois ou mais elementos climáticos, como temperatura ambiente (Figura 3.2), umidade relativa do ar (Figura 3.4), velocidade do vento e outras, buscando determinar a influência destes e de sua combinação sobre o conforto do animal em determinado ambiente. Os Índices de Temperatura e Umidade (ITU) podem ser observados na Figura 3.5. Segundo Armstrong (1994), ITU com valores até 72 não representam estresse ao animal; valores de 72 a 78 representam estresse médio; valores de 78 a 88 representam estresse grave; e valores de 89 a 98 representam estresse extremamente grave, sendo que valores superiores podem levar o animal a óbito.

Conforme as médias mensais de valores do ITU durante todo o período experimental, os animais passaram por estresse térmico na maioria dos meses, ou seja, com ITU acima de 72. Os meses de janeiro, maio e junho de 2012 apresentaram a média mensal de ITU considerada boa para o conforto térmico para os animais.

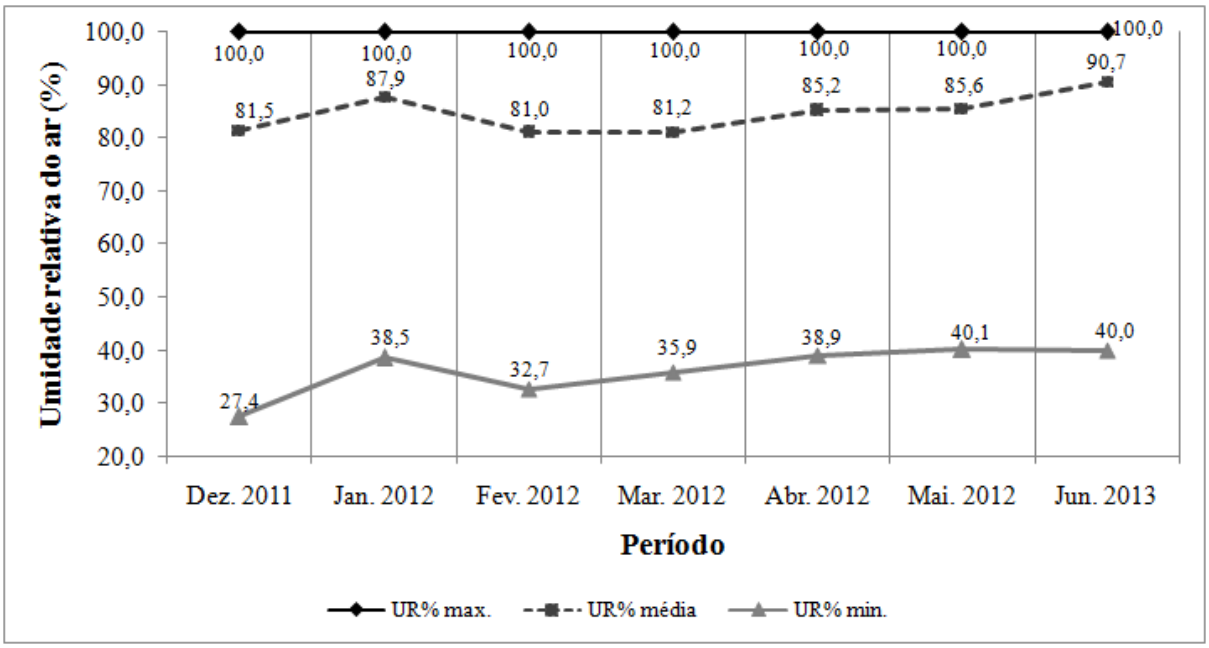

Figura 3.4 - Umidade relativa do ar (%) máxima, média e mínima durante o período experimental

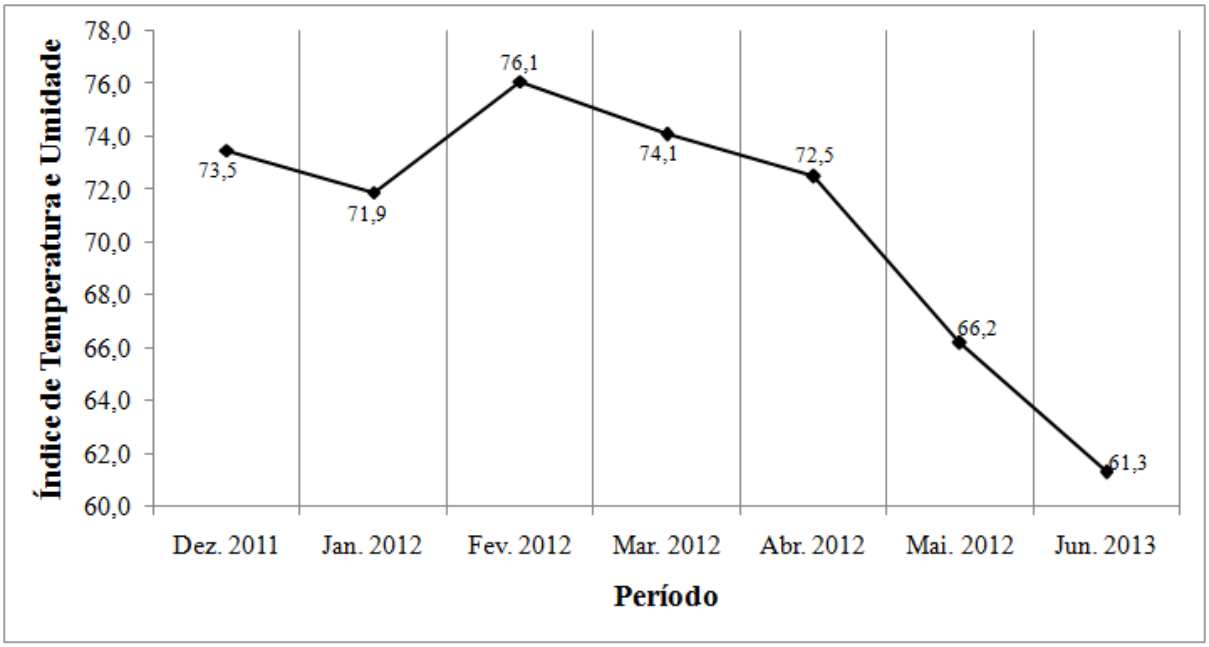

Figura 3.5 - Valores médios mensais do Índice de Temperatura e Umidade (ITU) durante o período experimental

Índice de Temperatura Equivalente (ITE) é um índice de conforto térmico que utiliza a combinação dos efeitos de temperatura ambiente, velocidade do ar e umidade relativa, para avaliar o conforto e desempenho dos animais (CASTRO et al., 2009). Baseando-se na classificação apresentada por Baeta et al. (1987) em que os ITE de 18 a 27ºC significam ausência de problemas; de 27 a 32ºC significam cautela; de 32 a 38ºC cautela extrema; de 38

a 44ºC significa uma situação de perigo; e maior que 44ºC uma situação de perigo extremo à saúde e bem-estar dos animais.

Conforme apresentado na Figura 3.6, os meses que apresentaram ITE ideal para os animais foram, janeiro, abril e maio de 2012. Os meses de dezembro de 2011 e fevereiro e março de 2012 apresentaram ITE acima do indicado, sugerindo que os animais sofreram desconforto térmico, porém nada crítico. Durante o mês de junho, o ITE apresentou-se um pouco abaixo do valor ideal, porém não representando situação extrema que afetasse o desenvolvimento dos animais, principalmente por que nesse período não houve a combinação de elevado índice pluviométrico (Figura 3.3) com frio extremo.

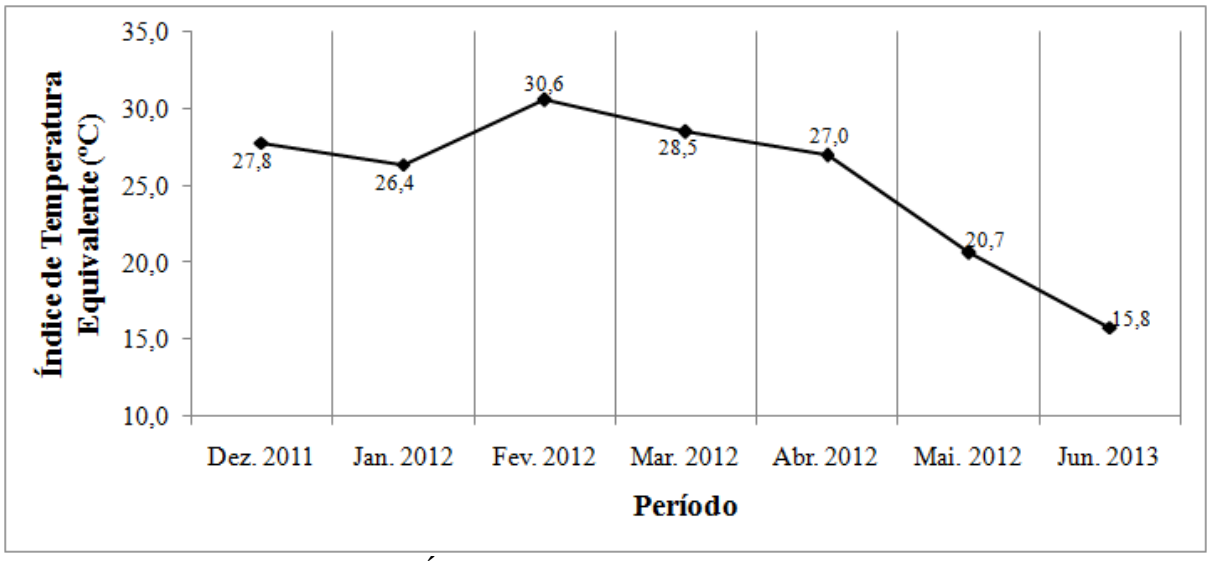

Figura 3.6 - Valores médios de Índice de Temperatura Equivalente (ITE) durante o período experimental

3.3.2 Escore fecal

Durante o período de aleitamento, um dos momentos mais críticos para os bezerros é o momento em que os animais são mais susceptíveis a afecções (2° e 3° semana de idade). Dentre as principais enfermidades que acometem os bezerros, dependendendo da clima e região, a diarreia é considerada a de maior importância, trazendo prejuízos devido a gastos com medicamentos, queda do desempenho animal, perda de peso e período de maior índice de mortalidade (DAVIS; DRACKLEY, 1998). Segundo Millemann (2009) e também segundo alguns estudos realizados com bezerros recebendo sucedâneo lácteo na quantidade média de cerca de 10% do peso corporal ao nascer, é notório que o período da segunda e terceira semana de idade dos animais é o mais crítico em relação às incidências de diarreia (Figura 3.7) (SILVA, 2010; FERREIRA 2011; DE PAULA, 2012; NÁPOLES, 2013).

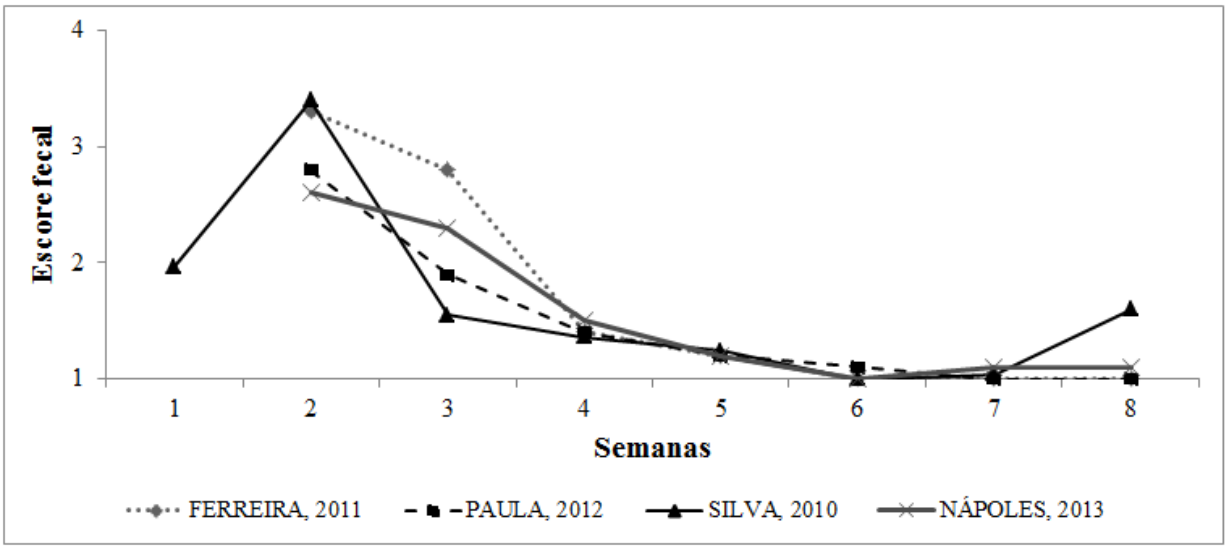

Figura 3.7 - Escore fecal de bezerros durante período de aleitamento, adaptado de acordo com os trabalhos realizados por Silva, 2010; Ferreira 2011; De Paula, 2012; Nápoles, 2013

O escore fecal foi realizado conforme sugerido por Larson et al. (1977), em que na avaliação das fezes, foi considerado diarreia no gráfico, escore superior a 2,5. No experimento com adição de polpa cítrica no concentrado inicial não foi observado diferença entre os tratamentos (P<0,05) para ao escore fecal dos animais durante o período de experimento (Figura 3.8).

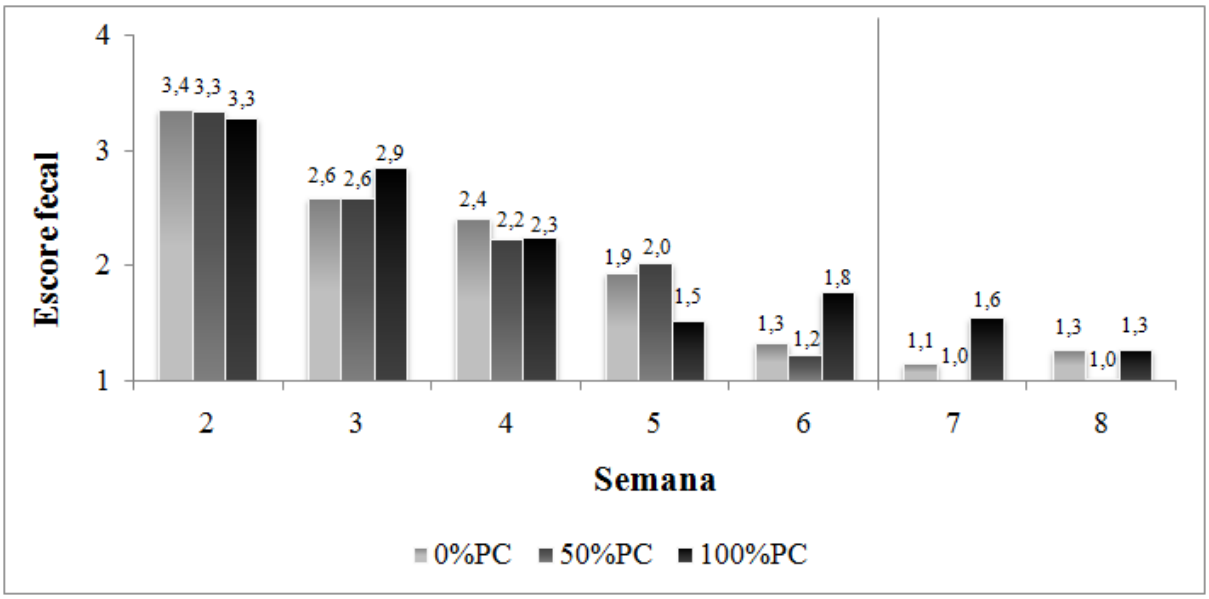

Figura 3.8 - Escore fecal de bezerros recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

No experimento com adição de melaço e xarope de glicose no concentrado inicial não foi observado diferença entre os tratamentos (P<0,05) em relação ao escore fecal dos animais durante o período de experimento (Figura 3.9).

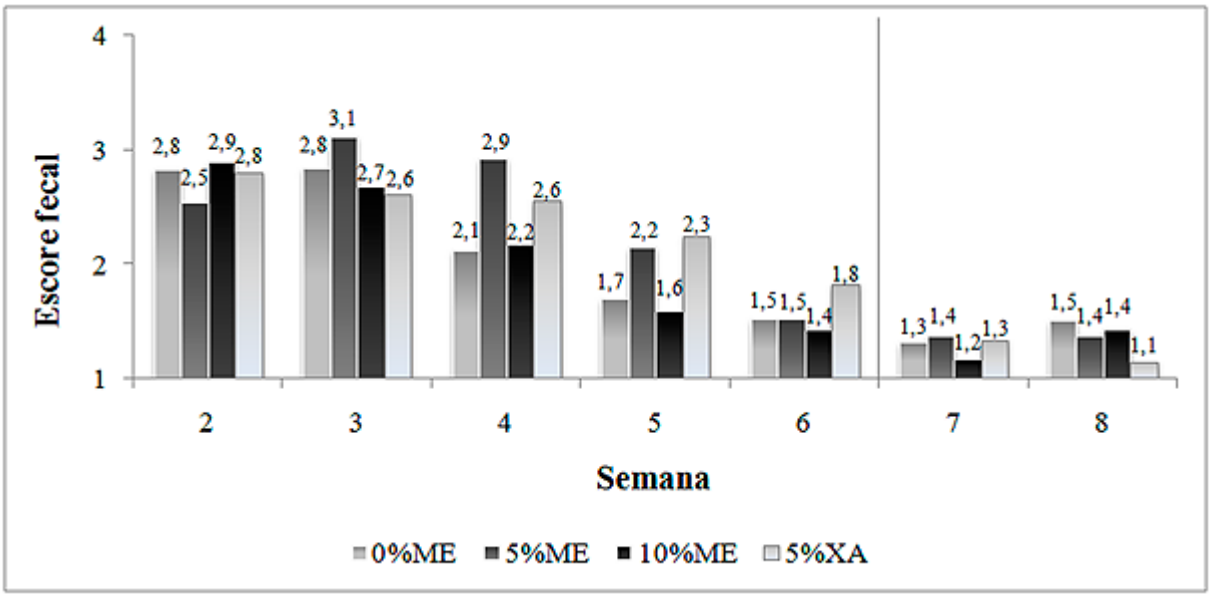

Figura 3.9 - Escore fecal de bezerros recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

Conforme Millemann (2009) e os resultados exibidos na Figura 3.9, a segunda e terceira semana são aquelas em que se observam maiores valores de escore fecal, o que corrobora com os dados obtidos e apresentados nas Figuras 3.8 e 3.9.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos em relação ao escore fecal, entretanto é interessante analisar que o tratamento com inclusão de 100% de polpa cítrica teve um escore ligeiramente mais alto nas sexta e sétima semanas de idade, provalvelmente devido à pectina proveniente da polpa cítrica, que possui efeito laxante nos animais (MOSCARDINI, 2008). A polpa cítrica possui natureza hidrofílica que faz com que o movimento peristáltico intestinal seja maior, resultando em produção de fezes mais moles, como diarreia, entretanto não infecciosa. Em um trabalho realizado por Schalch et al. (2001) resultados obtidos com o escore fecal foram semelhantes.

Resultandos semelhantes onde a inclusão de melaço no concentrado incial não teve efeito de escore fecal foram encontrados nos trabalhos realizados por Lesmeister; Heinrichs (2005) onde a diferença significativa foi de (P<0,11). Em contrapartida, Hill et al. (2008) em um estudo com dois tratamentos (5% de inclusão de melação e outro com 10% de melaço + 1,5% de glicose), observaram aumento significativo no escore fecal de bezerros recebendo concentrado inicial com maior inclusão de melaço (P<0,01) nas 6ª, 7ª e 8ª semana de idade.

3.3.3 Características das fezes e avaliação clínica

Durante os 3 dias de avalição da diarreia foram caracterizados vários aspectos das fezes como coloração, consistência e componentes conforme Larson et al. (1977). Também foram aferidas a temperatura retal, frequência cardíaca, frequência respiratória e sistema de escore clínico, no período da manhã às 7:00 horas, no período do meio-dia e no final da tarde às 19:00 horas. Para avaliar os sinais clínicos, foi realizado um sistema de escore (0-12), baseado na Tabela 3.3, para quantificar a severidade dos sinais clínicos, onde 0 = animal apresentando sinais clínicos normais e 12 = animais gravemente debilitados. Também foi calculado o ITU, já que os índices de conforto térmico interferem nos parâmetros fisiológicos.

De acordo com Millemann (2009) um diagnóstico clínico para descobrir a etiologia de surtos de diarreia, pode não ser efetivo no caso de um único animal, porém para um rebanho pode ser de grande importância, pois pode determinar quais melhores medidas a serem tomadas. Um bom diagnóstico clínico constitui da avaliação da idade dos animais afetados, sinais clínicos, sinais fisiológicos, característica das fezes, época do ano e histórico do rebanho.

De acordo com as características das fezes diarreicas dos animais do experimento com inclusão de polpa cítrica, foi observado que 58% das fezes apresentaram coloração amarela e 33% coloração cinza; 72% com consistência aquosa (escore 3) e 28% com consistência fluída (escore 4); 56% obtiveram o odor ligeiramente ofensivo e 37% com o odor altamente ofensivo.

De acordo com as características das fezes diarreicas dos animais do experimento com inclusão de melaço e xarope de glicose, foi observada que 69% das fezes apresentaram coloração amarela, 11% coloração cinza e 8% coloração preta; 71% com consistência aquosa (escore 3) e 29% com consistência fluída (escore 4); e 32% obtiveram o odor ligeiramente ofensivo e 62% com o odor altamente ofensivo.

Em ambos experimentos, as características fecais sugerem que os agentes patológicos de maior prevalência foram *Escherichia Coli* e Coronavírus, segundo Millemann (2009) e Mebus (1972) diarreias com fezes de coloração amarela e com muco é mais comum em infecções por esses patógenos. Smith (2001) relata que além desses dois agentes patológicos, outros agentes também provocam diarreias de coloração amarela como, por exemplo, Rotavírus, *Cryptosporidium* e Coccidiose (*Eimeria bovis* e *E. zurernii*). Fezes de coloração cinza, preta ou escura são comuns em infecções de Salmonella (SMITH, 2001).

Em relação aos resultados correspondentes ao experimento com inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial, o escore relacionado aos sinais clínicos (0-12) e todos os parâmetros fisiológicos avaliados (temperatura retal, frequência cardíaca e frequência respiratória) não diferenciaram entre os tratamentos (P>0,05) e também não houve diferença (P>0,05) em relação aos 3 dias que os animais foram submetidos às avaliações (Tabela 3.4). Entretanto, houve diferença em relação ao escore clínico (P=0,0003) e todos os parâmetro fisiológicos avaliados (P<,0001) entre os três horários (7:00h, 12:00h e 19:00h) no qual os animais foram submetidos às avaliações.

Tabela 3.4 - Valores médios dos 3 dias de avaliação de escore de quantificação de sinais clínicos e parâmetros fisiológicos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

	Tratamentos			**EPM[1]**	**P<[2]**			
	0%PC	**50%PC**	**100%PC**		**T**	**D**	**H**	**TxDxH**
Escore Clínico (0-12)	3,94	3,19	3,95	0,73	0,67	0,48	0,0003	0,99
Temp. retal (ºC)	39,3	39,5	39,1	0,19	0,38	0,62	<,0001	0,67
Freq. Respiratória (rpm)	50,3	41,4	41,6	6,05	0,59	0,94	<,0001	0,19
Freq. Cardíaca (bpm)	88,3	80,6	79,9	2,99	0,19	0,21	<,0001	0,65

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; H=efeito de horas avaliadas; TxDxH = interação entre efeitos de tratamento, dias e horas

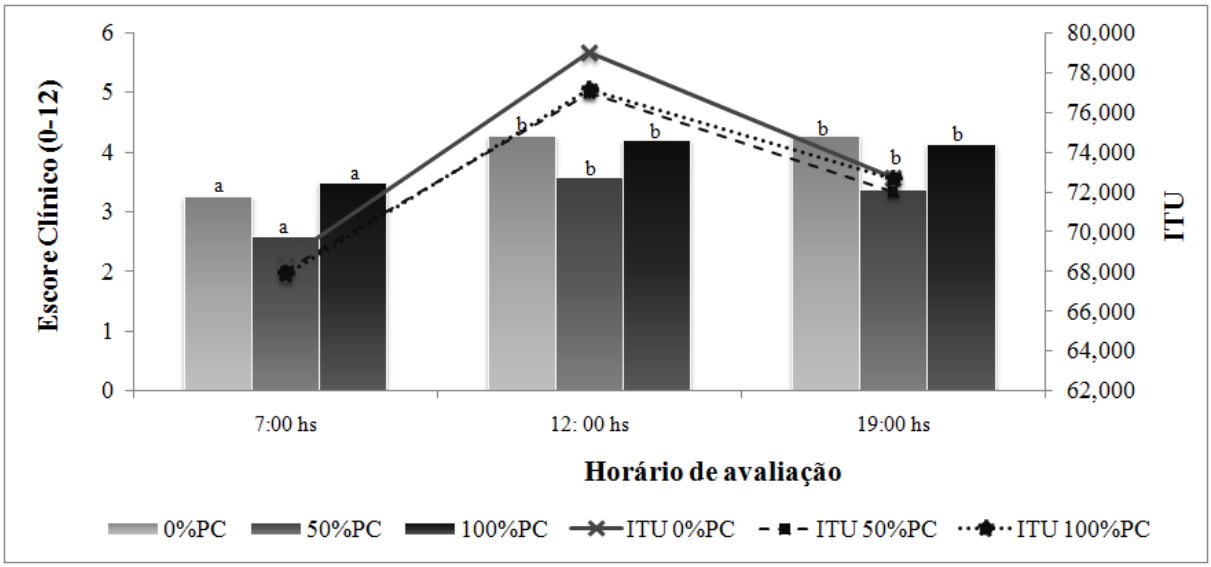

Figura 3.10 - Escore clínico médio de bezerros apresentando diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Conforme é possível observar na Figura 3.10, o escore clínico apresentou uma piora durante os períodos onde o índice de temperatura e umidade foram maiores, e não houve influência relacionada ao aumento da inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial fornecido aos animais. Com isso pode-se compreender que o estresse térmico provocado por inadequadas situações climáticas teve maior influência no estado clínico dos animais doentes do que a dieta contendo polpa cítrica. Os dados relativos àos parâmetros fisiológicos (Figura 3.11) reforçam esse fato.

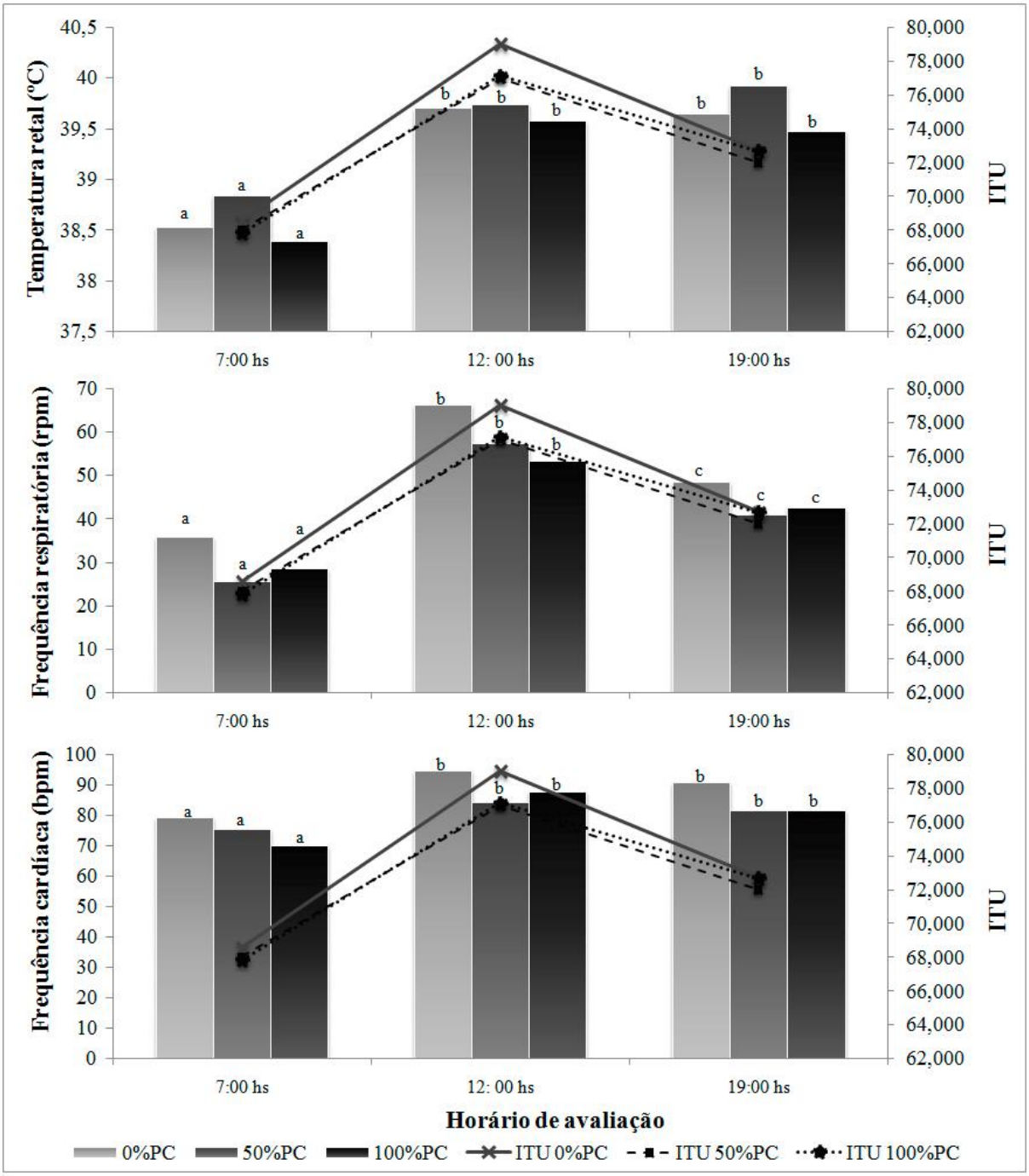

Figura 3.11 - Parâmetros fisiológicos de bezerros apresentando diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Em relação aos resultados correspondentes ao experimento com inclusão de melaço e xarope de glicose no concentrado inicial, o escore relacionado aos sinais clínicos (0-12) e todos os parâmetros fisiológicos avaliados (temperatura retal, frequência cardíaca e frequência respiratória) não apresentou diferença entre os tratamentos e os dias avaliados (P>0,05) (Tabela 3.5). Entretanto, houve diferença (P<,0001) em relação ao escore clínico (Figura 3.12) e todos os parâmetro fisiológicos avaliados (Figura 3.13) entre os três horários (7:00h, 12:00h e 19:00h) em que os animais foram submetidos às avaliações.

Tabela 3.5 - Valores médios dos 3 dias de avaliação do escore de quantificação de sinais clínicos e parâmetros fisiológicos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

	Tratamentos				**EPM[1]**	**P<[2]**			
	0%ME	**5%ME**	**10%ME**	**5%XA**		**T**	**D**	**H**	**TxDxH**
Escore Clínico (0-12)	2,69	3,28	3,51	2,79	0,80	0,85	0,79	<,0001	0,89
Temp. retal (ºC)	39,1	39,4	39,5	39,1	0,15	0,08	0,84	<,0001	0,11
F. Respiratória (rpm)	36,2	41,9	46,3	34,0	3,74	0,09	0,18	<,0001	0,60
Freq. Cardíaca (bpm)	104,2	106,9	111,2	98,2	4,11	0,15	0,46	<,0001	0,78

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; H=efeito de horas avaliadas; TxDxH = interação entre efeitos de tratamento, dias e horas

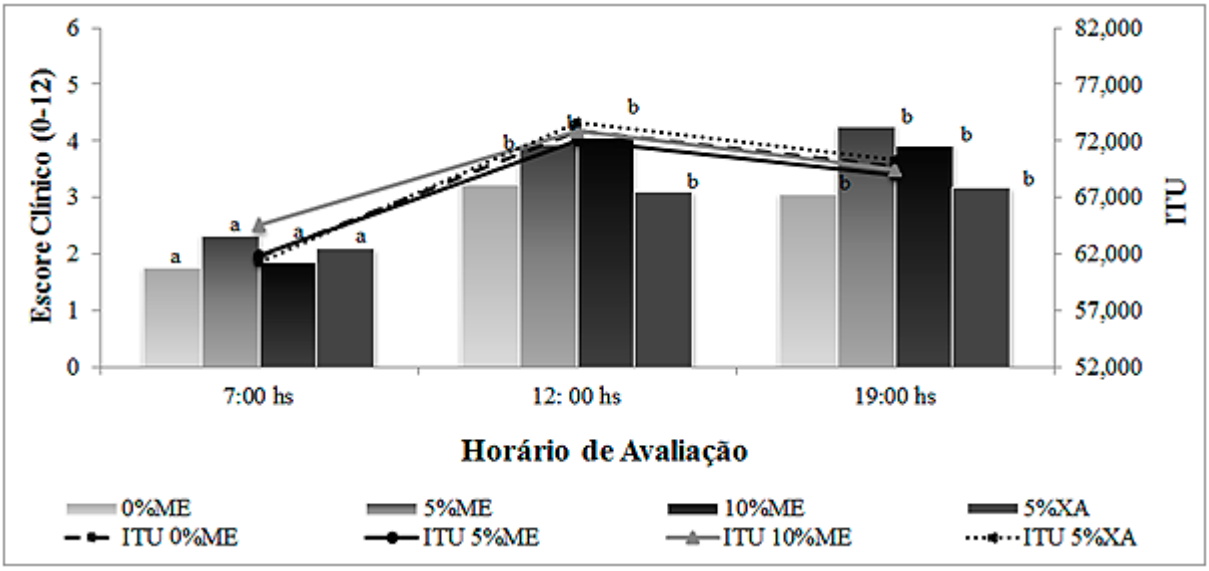

Figura 3.12 - Escore clínico médio de bezerros apresentando diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

Conforme é possível observar na Figura 3.12, o escore clínico apresentou uma piora durante os períodos onde o índice de temperatura e umidade foram maiores, e não houve influência relacionada ao aumento da inclusão de melaço ou xarope de glicose no concentrado inicial fornecido aos animais. Segundo Nakagawa; Suzuki; Taguchi (2007) escore acima de 6,5 indica um quadro clínico ruim ao animal, a média obtida em todos os tratamentos foi menor que 6,5, além disso, as médias dos valores do ITU não foram prejudiciais aos animais, ou seja, não provocando estresse térmico.

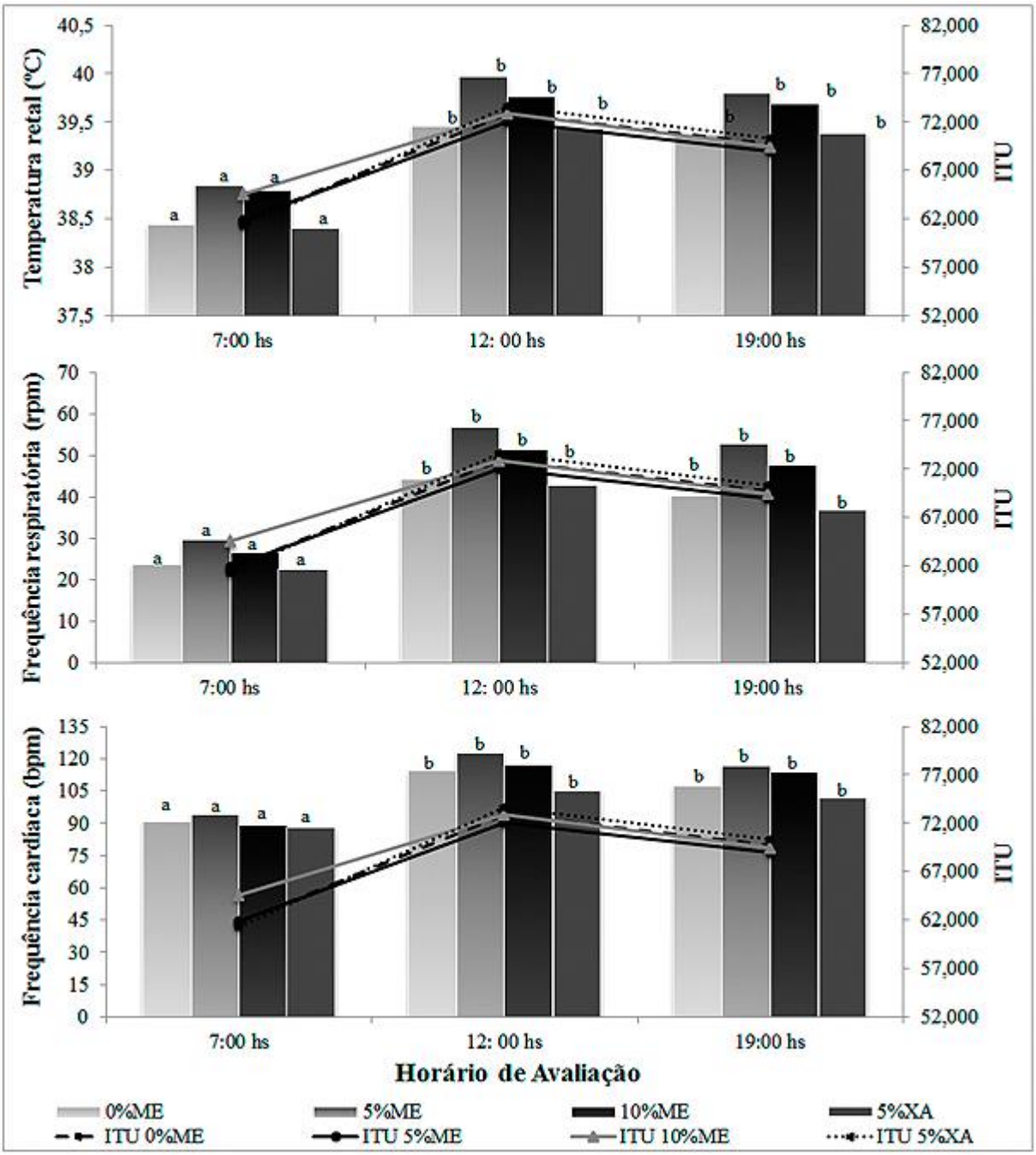

Figura 3.13 - Parâmetros fisiológicos de bezerros apresentando diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

De acordo com a Figura 3.13 é possível observar que a média da temperatura retal dos animais teve valores normais apenas no período do inicio da manhã (7:00 hs), nos outros horários avaliados a temperatura retal apresentou-se acima do normal.

A temperatura retal de bezerros da raça Holandês é considerada dentro da faixa normal quando está em valores entre 38,0 – 39,5ºC, a frequência respiratória por minuto (rpm) é considerada normal entre os valores de 15 a 40 rpm e a frequência cardíaca por minuto (bpm) é considerada normal entre os valores de 60 a 120 bpm (SOUZA et al., 2004; FERREIRA et al., 2006; EL-SHEIKH et al., 2012).

Todos os sinais clínicos escolhidos para a pontuação do escore foram atribuídos para avaliar reflexos neurológicos (reflexo de mamada, capacidade de ficar de pé, reflexo de ameaça, resposta tátil) e avaliar a função cardiovascular (calor das extremidades e calor da boca). Esses parâmetros são considerados importantes para avaliar o estado clínico de um bezerro que apresenta diarreia, seguida de desidratação e acidose metabólica (KASARI; NAYLOR, 1986; LORENZ, 2003; BAQUERO-PARRADO, 2008).

Lorenz (2003) realizou um estudo com 80 bezerros apresentando diarreia e acidose metabólica e concluiu que os parâmetros utilizados para avaliar o escore clínico podem ser considerados como ferramentas importantes para avaliar a severidade das consequências clínicas e metabólicas que a diarreia pode provocar em bezerros. Segundo Nakagawa, Suzuki e Taguchi (2007) a quantificação de escore clínico de 0 a 12 é uma ferramenta importante que pode ser levada em consideração para diagnosticar bezerros com acidose metabólica, e conclui-se que escore acima de 6,5 indica acidose metabólica severa.

Freitas (2009) realizou um trabalho com 33 bezerras apresentando diarreia, e quantificou em escore clínico os sintomas apresentados pelos animais conforme Kasari; Naylor (1986), e obteve resultados semelhantes aos resultados observados nas Figuras 3.10 e 3.12.

Os principais achados clínicos apresentados pelos bezerros acometidos com diarreia em todos os tratamentos de ambos os experimentos foram redução do apetite, apatia, diminuição do reflexo de mamada, e através de exame clínico visual quadros de desidratação de leve a moderada.

De acordo com as Figuras 3.11 e 3.13 é possível observar que a média da temperatura retal dos animais teve valores normais apenas no período do inicio da manhã (7:00 hs), nos outros horários avaliados a temperatura retal apresentou-se acima do normal. De acordo com Simon (1993) a regulação da temperatura corporal depende do balanço entre produção de calor (processos metabólicos) e perda de calor (por trocas com o ambiente), sendo normal a

variação rítmica diária de temperatura corporal que oscila fisiologicamente durante o início da manhã e fim do dia. Dentre os vários fatores responsáveis pelas alterações de temperatura do organismo (hipertermia), as principais são infecção, seqüela de dano tecidual, inflamação, medicamentos, excesso de atividade musculoesquelética e exposição a grandes temperaturas ambientais.

Bezerros apresentando diarreia de etiologia infecciosa apresentam temperatura corporal acima do normal (>39,5ºC), sendo que cada microorganismo patológico possui particularidades no modo de infecção que provoca hipertermias leves ou mais severas, como a Salmonella que provoca febre acima de 41ºC (MILLEMANN, 2009).

Além de infecções, ambientes com temperaturas acima do considerado ideal também podem resultar em hipertermia em bezerros. Souza et al. (2004) observaram que o tipo de bezerreiro e o horário influenciaram significativamente a freqüência respiratória e a temperatura retal dos bezerros. Ferreira et al. (2006) realizaram um trabalho comparando parâmetros fisiológicos de bezerros durante o período da manhã e período da tarde, mostrando uma grande variação da temperatura corporal e frequência respiratória. Durante o período da manhã a média da temperatura retal dos animais foi normal (38,02±0,05ºC), e durante o período da tarde foi alta (40,86±0,05ºC), com isso pode-se concluir em relação à temperatura retal que fatores climáticos juntamente com os abrigos individuais de cobertura de zinco foram os maiores responsáveis pela hipertermia observada, podendo excluir infecções como causa da hipetermia ou febre.

O sistema respiratório possui várias funções, dentre as mais importantes estão a oxigenação do organismo, a eliminação de gás carbônico (CO_2), equilíbrio acidobásico e termorregulação. Devido a essas funções, quando o bezerro está com quadro de diarreia e acidose metabólica, onde ocorre a diminuição de pH sanguíneo e, através de estímulos nervosos, a frequência respiratória aumenta, com a finalidade compensatória, eliminando o excesso de dióxido de carbono (FRANDSON; WILKE; FAILS, 2011; EL-SHEIKH et al., 2012). Além disso, o sistema respiratório é um dos principais sistemas de termorregulação utilizado pelos mamíferos, através de perda de calor por resfriamento evaporativo, por isso quando ocorre um estresse devido a altas temperaturas, a frequência respiratória aumenta (ETCHICHURY, 2008).

Além da respiração, o sistema cardiovascular também é um meio termorregulador utilizado pelo organismo. Segundo Etchichury (2008), quando o animal é exposto a estresse calórico, o sistema cardiovascular passa por uma série de adaptações, pois nessas situações a demanda de sangue dos órgãos vitais aumenta e o desvio de sangue para pele também é

necessária para dissipar o calor. Além do estresse calórico, o sistema cardiovascular se adapta em casos de desidratação, decorrente de intensa sudação para termorregulação ou então devido a uma patologia como diarreia. A desidratação promove redução do volume sanguíneo que diminui a eficiência do volume sistólico. Nestes casos, para manter a perfusão adequada dos tecidos, a frequência cardíaca é aumentada (GEOR et al., 1995).

Devido a todos esses fatores e funções do sistema respiratório e sistema cardiovascular citados acima, é possível entender as diferenças da frequência cardíaca e frequência respiratória (Figuras 3.11 e 3.13) durante os horários avaliados, dos bezerros diarreicos e submetidos a estresse calórico.

Aos dados avaliados referentes ao ITU, o experimento relativo à adição de polpa cítrica no concentrado foi realizado em período mais quente com ITU acima dos valores considerados bons (72), já o experimento relativo à adição de melaço e xarope de glicose no concentrado os valores de ITU durante o período experimental não ultrapassaram os valores médios de ITU de 72. Entretanto, a alta temperatura retal dos animais (<39,5ºC) foi constatada em ambos experimentos apenas nos períodos mais quentes, sugerindo que a hipertermia seja devido à fatores climáticos. A frequência cardíaca e a frequência respiratória tambem tiveram aumento de acordo com o aumento do ITU, sugerindo que fatores climáticos tiveram influência nos parâmetros fisiológicos analisados.

Apesar das variâncias das avaliações tanto fisiológicas como clínicas apresentadas, a inclusão de polpa cítrica, de melaço ou de xarope de glicose no concentrado inicial fornecido aos bezerros não teve influência sobre essas avaliações (Tabela 3.4 e 3.5).

3.3.4 Leucograma

Em relação ao experimento com inclusão de polpa cítrica, houve diferença ($P<0,05$) entre os tratamentos, tanto para a contagem total de leucócitos (Figura 3.14), quanto para a contagem diferencial de leucócitos (Figura 3.15) dos animais apresentando diarreia.

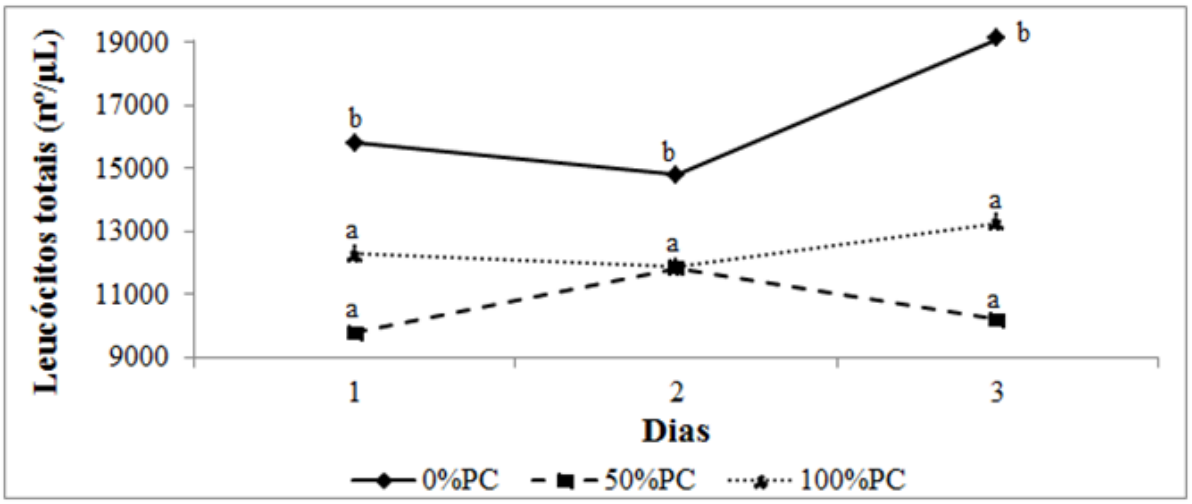

Figura 3.14 - Contagem total de leucócitos (nº/µL) obtido no leucograma de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Entretanto essa diferença não corresponde ao aumento gradual de inclusão de polpa cítrica no concentrado, e sim provavelmente devido a outros fatores, como capacidade e comportamento imunológico de cada indivíduo estudado e também devido aos agentes patológicos responsáveis pela afecção do trato gastrointestinal que provocou as incidências de diarreias nos animais. Segundo Philpott e Girardin (2010) a relação entre a microflora intestinal com o sistema imunológico e os órgãos envolvidos como o timo, a medula óssea e o baço é muito complexa, envolvendo vários fatores ainda não esclarecidos que precisam ainda ser estudados.

Porém, segundo Machado et al. (2004) sabe-se desde os anos 50 que, diferentes tipos de microorganismos são combatidos ou neutralizados por células do sistema imunológico, impedindo sua ligação com o tecido do hospedeiro. Células como neutrófilos, linfócitos, macrófagos e eosinófilos exercerm a função microbicida, sendo elas importantíssimas para a defesa do hospedeiro.

Segundo Zhang et al. (1997) quando o animal sadio é exposto a uma infecção ocorre mobilização do sistema imunológico, e células de defesa (leucócitos) são produzidas com a finalidade de combater o microorganismo. Por isso a leucocitose pode ser forte indicativo de infeção no organismo. Por exemplo, quando o organismo é exposto à infecção bacteriana, ocorre neutrofilia devido a uma resposta quimiotáxica (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

Em um trabalho realizado por Burciaga-Robles et al. (2010), bezerros expostos ao vírus da Diarreia Bovina Viral (BVDV1b) apresentaram aumento de linfócitos, enquanto os animais expostos a bactéria *Mannheimia haemolytica* apresentaram aumento de neutrófilos totais.

Para poder fazer uma análise de um leucograma e diagnosticar anomalias indicando, por exemplo, infecções, é preciso obter valores de referência englobando animais com características mais semelhantes possíveis como faixa etária, raça e ambiente. Os resultados da contagem total de leucócitos/µl (Figura 3.14) estão, na maioria, acima dos valores de referência obtidos nos trabalhos realizados por Birgel Jr. et al. (2001), Wilson, Egan e Drake (1994), Espinoza et al. (2000), onde o limite considerado normal é de 10500 leucócitos/µL. Com isso, a conclusão é que as incidências de diarreia nos animais dos tratamentos do experimento foram de etiologia infecciosa, ou seja, causada por algum microrganismo patogênico que estimulou o sistema imunológico dos animais.

A contagem de neutrófilos/µL (Figura 3.15) foi alta em comparação aos valores de referência obtidos por Soliman e Zaki (1966), Birgel Jr. et al. (2001) e Espinoza et al. (2000). A neutrofilia observada na Figura 3.17, indica que as diarreias provavelmente foram de origem bacteriana. Também é possível observar neutrofilia à esquerda nos tratamentos 0% e 100% de inclusão de polpa cítrica no concentrado, já o tratamento 50% de inclusão de polpa cítrica a contagem de neutrófilos bastonetes está dentro dos valores normais, com isso pode-se dizer que, o aumento gradativo associado à composição do concentrado destes tratamentos não interferem na taxa de infecção de microorganismo, nem na resposta leucocitária. O aumento do número de neutrófilos bastonetes (neutrófilos jovens) lançados na corrente sanguínea possui a finalidade de combater infecções bacterianas quando estas são mais severas ou agudas (FRASER, TILYARD; 2008).

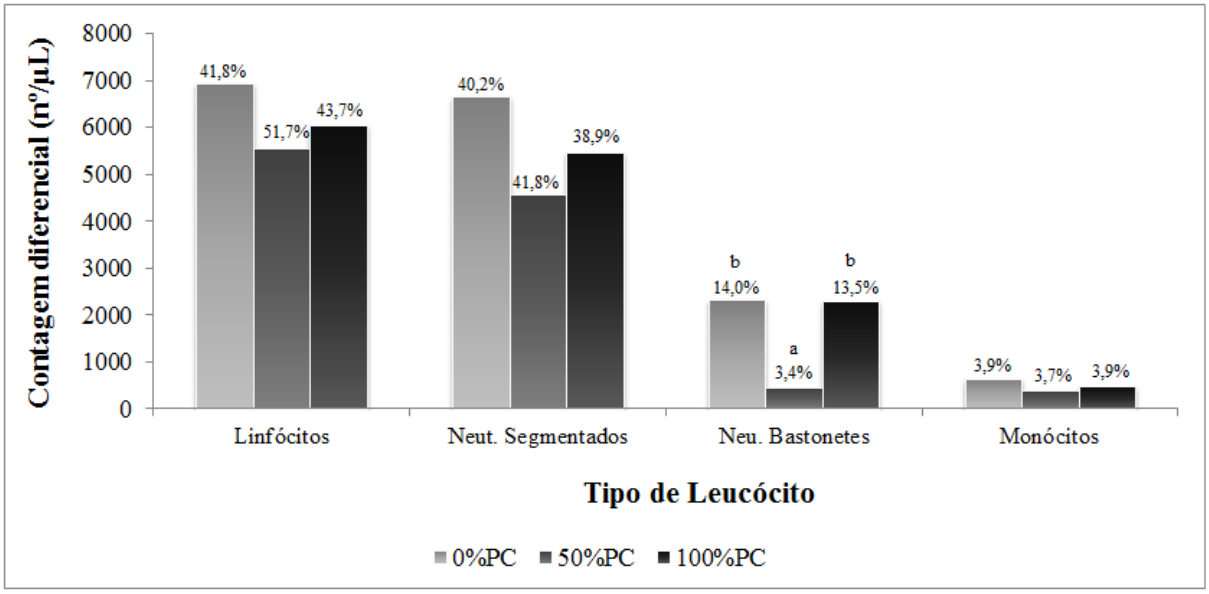

Figura 3.15 - Contagem diferencial de leucócitos (nº/µL) e (%) relativos à contagem total de leucócitos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Em relação ao experimento com inclusão de melaço e xarope de glicose no concentrado incicial, houve diferença na contagem total de leucócitos (P<0,05) no tramento 10% de inclusão de melaço em relação aos outros tratamentos (Figura 3.16). A média da contagem de leucócitos estão na maioria acima dos valores de referência obtidos nos trabalhos realizados por Birgel Jr. et al. (2001), Wilson, Egan e Drake (1994), Espinoza et al. (2000), onde o limite considerado normal é de 10500 leucócitos/µL, com exceção do tratamento com 10% de inclusão de melaço apresentou valores normais. Com isso, seguindo o pensamento de Zhang et al. (1997) e Machado et al. (2004) as incidências de diarreia nos animais dos tratamentos 0%ME, 5%ME e 5%XA podem ser diagnosticadas como diarreia infecciosa, entretanto, os valores normais de contagem total de leucócitos no tratamento 10%ME, sugerem que as incidências de diarreia nos animais pode ter sido de etiologia não infecciosa.

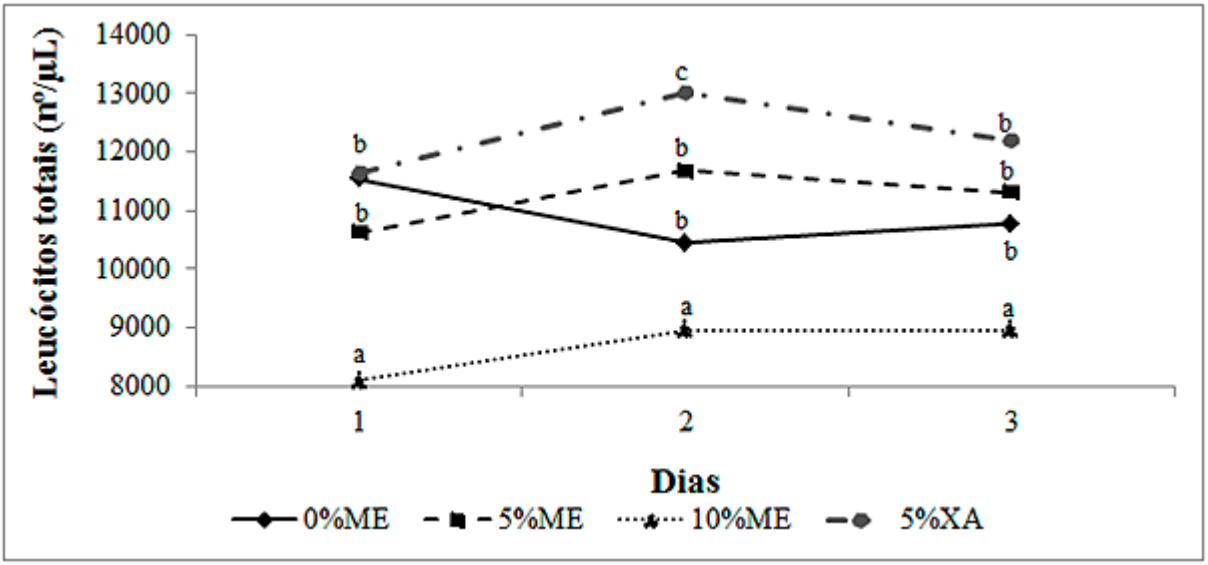

Figura 3.16 - Contagem total de leucócitos (nº/µL) obtido no leucograma de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

É importante para um diagnóstico correto e mais seguro, sempre associar os resultados obtidos na contagem total de leucócitos com a contagem diferencial de leucócitos (FRASER; TILYARD, 2008). De acordo com os resultados observados na Figura 3.17, todos os tratamentos apresentaram o valor relativo de neutrófilos segmentados (%) semelhantes, com valores acima da média aos valores de referência obtidos por Soliman e Zaki (1966), Birgel Jr. et al. (2001), Espinoza et al. (2000) e também nos valores observados na Figura 4.14, onde a média relativa da contagem diferencial de leucócitos foi de 57% para linfócitos, 35% para neutrófilos segmentados, 4% para neutrófilos bastonetes e 3% para monócitos. A

neutrofilia observada indica que o organismo dos animais no período em que estavam apresentando diarreia estava combatendo algum tipo de microorganismo, provavelmente bactérias, já que os neutrófilos são células de defesas mais especializadas em combater esse tipo de agente patológico. Também é possível observar neutrofilia à esquerda nos tratamentos 5% ME, 10%ME e 5%XA, significando que, o aumento do numero de neutrófilos bastonetes (neutrófilos jovens) lançados na corrente sanguínea possui a finalidade de combater infecções bacteriadas, geralmente quando severas ou agudas (FRASER, TILYARD; 2008).

Para explicação dos valores normais de leucócitos totais no tratamento 10%ME, porém para valores acima da média de neutrófilos segmentados e neutrófilos bastonetes, representando neutrofilia à esquerda, Kahn e Line (2011) alegam que em ruminantes, quando há infecção intestinal, leucócitos tendem a se transferir rapidamente para o tecido onde está ocorrendo a infecção, e por isso, pode haver uma contagem de leucócitos totais circulantes em valores normais, porém havendo uma infecção.

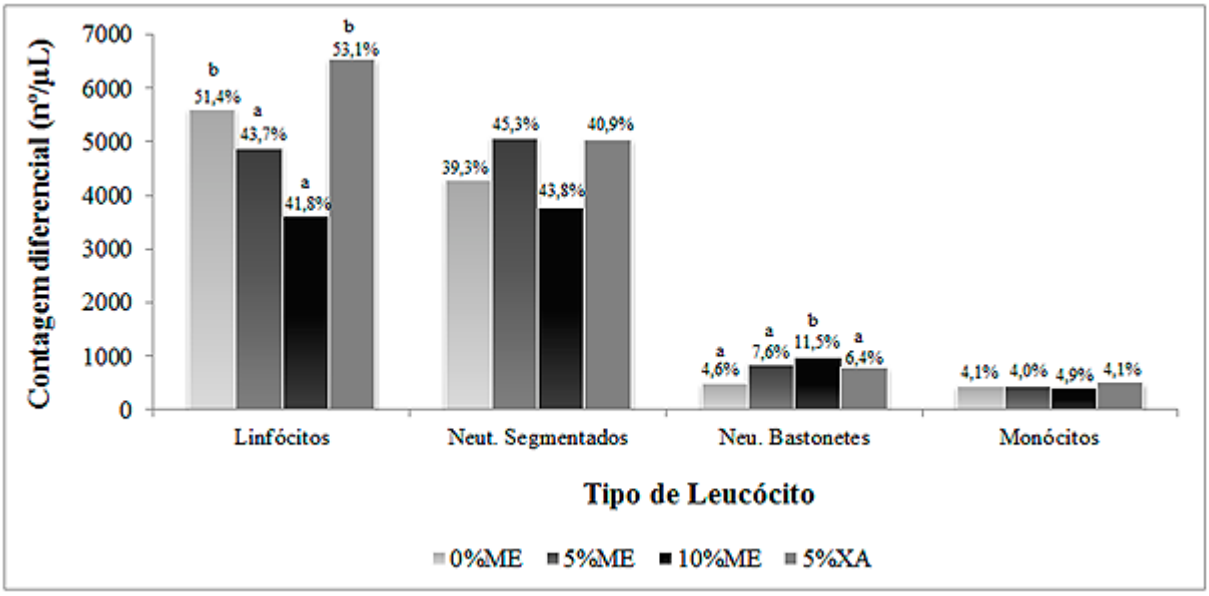

Figura 3.17 - Contagem diferencial de leucócitos (nº/µL) e (%) relativos à contagem total de leucócitos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

3.3.5 Eritrograma

Aos dados do eritrograma referentes ao experimento relativo à inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial fornecido aos bezerros, os valores médios de hematócrito, eritrócitos totais, volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM) não apresentaram diferenças estatísticas (P<0,05) entre os tratamentos (Tabela 3.6). Também não houve efeito do dia de avaliação após o diagnóstico.

A polpa cítrica é uma fonte rica em açúcares, pectina e fibras altamente digestíveis, que pode ter efeito laxante (MOSCARDINI, 2008). Entretanto o uso deste ingrediente em rações para bezerros é questionável uma vez que o trato gastrointestinal posterior destes animais não é totalmente capaz de digerir e absorver certas classes de alimentos, pelo fato da ausência ou pequena quantidade de enzimas responsáveis por digerir carboidratos que não seja a lactose (TOULLEC; GUILLOTEAU, 1989; SCHALCH et al., 2001).

O quadro clínico de bezerros com enfermidades pode piorar com manejos nutricionais inadequados. Em relação à diarreia, segundo Ravary-Plumioën (2009), uma das principais e mais graves consequências é a desidratação, ou seja, a perda de líquido corporal e que pode levar o animal a óbito.

Tabela 3.6 - Média do período total dos valores de hemograma: hematócrito, contagens totais de eritrócitos, volume globular médio e concentração de hemoglobina globular médica obtido no hemograma de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

	Tratamento			**EPM[1]**	**P<[2]**		
	0%PC	**50%PC**	**100%PC**		**T**	**D**	**TxD**
Hematócrito (%)	23,8	24,2	23,7	2,97	0,99	0,70	0,82
Eritrócitos totais (x10^6/µL)	7,25	6,02	7,53	0,82	0,37	0,21	0,08
VGM (fL)	32,5	40,3	31,9	2,42	0,06	0,49	0,92
CHGM (g/dL)	36,16	34,58	35,34	1,96	0,87	0,86	0,88

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; TxD = interação entre efeitos de tratamento e dias

Quando o valor de hematócrito for alto (%) pode ser indício de desidratação ou respectivamente o volume de plasma diminuído. Na Figura 3.18, é possível observar que os valores de hematócrito estão de acordo com a média obtida em trabalhos realizados por Paré et al. (1993); Marçal et al. (1995); Ježek et al. (2011); Ramin et al. (2012), não ultrapassando valores médios de 30% que indica desidratação.

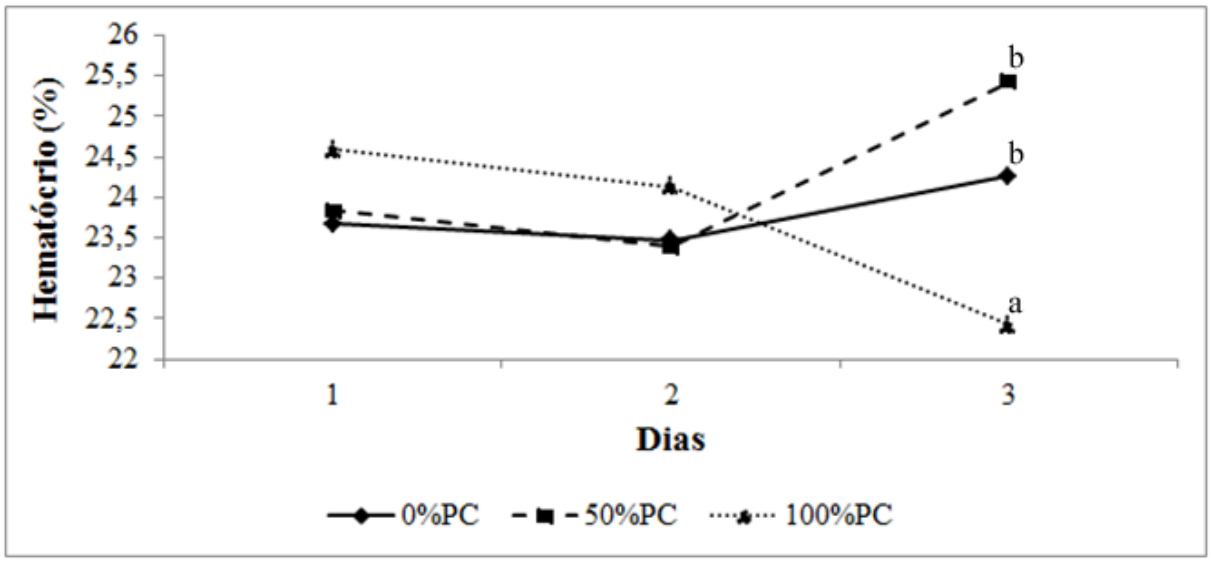

Figura 3.18 - Hematócrito (%) obtido no hemograma de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Apesar do hematócrito ser um bom indicador de desidratação, são necessários outros parâmetros do hemograma, como valores de eritrócitos totais, VGM e CHGM, para obter diagnóstico correto. Segundo Fraser e Tilyard (2008) altos valores de hematócrito podem representar além de desidratação, quadros de policitemia primária ou secundária devido a vários fatores, como por exemplo, baixos teores de oxigênio no sangue.

O Volume Globular médio (VGM) e o valor de concentração de hemoglobina globular média (CHGM) são análises importantes para se obter diagnósticos mais precisos junto com o hematócrito (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007; RAMIN et al., 2012). Os valores obtidos neste trabalho (Tabela 3.6) os valores estão normais de acordo com trabalhos realizados por Paré et al. (1993); Costa et al. (2005); Ježek et al. (2011); Ramin et al. (2012), indicando ausência de anemia nos animais, ou outra anormalidade em relação ao volume do plasma com o volume de hemácias.

Aos dados do eritrograma referentes ao experimento relativo à inclusão de melaço e xarope de glicose no concentrado inicial fornecido aos bezerros, os valores médios de hematócrito, eritrócitos totais, volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM) não apresentaram diferenças (P>0,05) entre os tratamentos (Tabela 3.7). Também não houve efeito entre os dias analisados.

Tabela 3.7 - Média do período total dos valores de hemograma: hematócrito, contagens totais de eritrócitos, volume globular médio e concentração de hemoglobina globular médica obtido no hemograma de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

	Tratamento				EPM[1]	P<[2]		
	0%ME	5%ME	10%ME	10%XA		T	D	TxD
Hematócrito (%)	23,0[a]	26,4[b]	28,9[c]	25,1[b]	1,66	0,04	0,16	0,03
Eritrócitos totais (x10^6/µL)	6,23	7,12	7,22	6,91	0,52	0,54	0,78	0,42
VGM (fL)	37,48	41,17	37,29	35,81	1,64	0,18	0,08	0,70
CHGM (g/dL)	34,54	34,79	35,02	33,82	1,41	0,93	0,64	0,35

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; TxD = interação entre efeitos de tratamento e dias

O hemátócrito é um importante exame realizado para diagnosticar desidratação, em casos de diarreia em bezerros, isso é importante, pois a desidratação é uma das consequências da diarreia mais grave que pode até provocar óbito dos animais (RAVARY-PLUMIOËN, 2009).

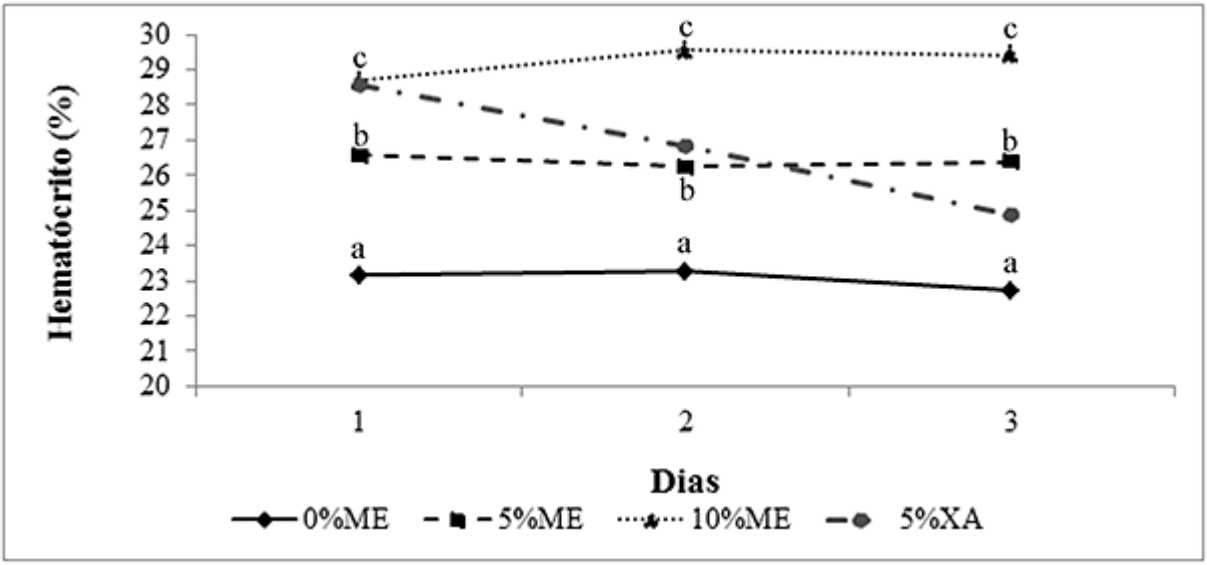

Figura 3.19 - Hematócrito (%) obtido no hemograma de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

Na Figura 3.19 os valores médios de hematócrito se encontram dentro dos valores de referência obtidos por Paré et al. (1993); Marçal et al. (1995); Ježek et al. (2011); Ramin et al. (2012), indicando que os animais não sofreram desidratação durante os três primeiros dias de diarreia, apesar de, o tratamento com inclusão de 10% de melaço ter chegado a valores médios próximos do limite considerado normaL (29,55%). É interessante observar que a

média dos valores de hematócrito foram crescentes e com diferença significativa (P<0,03) com o aumento da inclusão de melaço no concentrado inicial fornecido aos bezerros (Figura 3.19).

Para obter diagnósticos mais precisos junto com o hematócrito e descartar outra anormalia referente à quantidade ou volume de hemácias é essencial calcular os valores de VGM e CHGM (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007; RAMIN et al., 2012). De acordo com os valores obtidos neste trabalho (Tabela 3.7) os valores estão normais de acordo com trabalhos realizados por Costa et al. (2005); Ježek et al. (2011); Paré et al. (1993); Ramin et al. (2012) indicando ausência de problemas como anemia, policitemia ou desidratação.

3.3.6 Análises gasométricas e eletrolíticas

Além da desidratação, a ocorrência de diarreias em bezerros pode provocar acidose metabólica, que pode estar ou não relacionada ao quadro de desidratação, devido a consequente diminuição da perfusão renal (KASARI; NAYLOR, 1986). O sistema de mecanismos homeostáticos que controlam o equilíbrio acidobásico é fundamental para a sobrevivência do animal. Em caso de distúrbios relacionados a esses mecanismos, pode ocorrer disfunção dos órgãos, podendo causar a morte do animal (RODES; CUSACK, 2000).

Para avaliar e diagnosticar esses distúrbios, é essencial a realização de alguns exames como análise gasométrica, pH sanguíneo, dosagem de eletrólitos e outras substâncias interligadas ao equilíbrio acidobásico do organismo (FALL, 2000).

Em relação ao experimento com inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial, os valores médios dos 3 dias de avaliação de todos os parâmetros gasométricos e eletrolíticos avaliados não apresentaram diferenças (P>0,05) entre os tratamentos (Tabela 3.8). No entanto, o dia de avaliação teve influência nos valores de pH (P<0,04), HCO_3^- (P<0,05) e de potássio (P<0,05).

Tabela 3.8 – Média do período total das análises gasométricas e de avaliação de eletrólitos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

	Tratamento			EPM[1]	P<[2]		
	0%PC	**50%PC**	**100%PC**		**T**	**D**	**TxD**
pH	7,37	7,35	7,37	0,03	0,73	0,04	0,83
HCO_3 (mmol/L)	28,53	26,69	26,28	2,13	0,69	0,05	0,33
PCO_2 (mmHg)	54,13	51,99	50,81	1,68	0,48	0,81	0,69
K (mEq/L)	4,66	4,62	4,57	0,10	0,83	0,05	0,24
Na (mEq/L)	133,9	134,3	134,0	1,85	0,99	0,08	0,91
Cl (mmol/L)	95,6	97,0	96,7	2,81	0,95	0,61	0,41
AnGap (mmol/L)	11,7	13,2	11,6	0,89	0,37	0,19	0,29
BE_{ecf} (mmol/L)	6,2	3,0	4,9	2,53	0,69	0,08	0,33
Hb (g/dL)	8,72	8,32	8,45	1,73	0,99	0,71	0,45

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; TxD = interação entre efeitos de tratamento e dias

Para avaliar a gasometria, é importante em primeiro lugar verificar a validade dos dados obtidos no exame. Para isso é utilizada a equação de Henderson-Hasselbach (1), que utiliza dados de PCO_2 e de HCO_3^-, para comparar com o dado obtido do pH.

$$\text{(1)}\ \mathbf{pH=5{,}10 + \log([HCO_3^-]/[PCO_2 \times 0{,}003060])}$$

Os dados resultantes da equação de Henderson-Hasselbach dos tratamentos 0%PC, 50%PC e 100%PC, foram de pH = 7,38, 7,35 e 7,39, respectivamente, apresentando valores de pH iguais ou bem próximos aos obtidos (Tabela 3.8) pela metodologia utilizada neste experimento.

Através das análises obtidas na Tabela 3.8, é possível verificar se há algum distúrbio acidobásico primário e diferencial. Para isso é importante estabelecer valores normais de referência para categoria da espécie estudada. Para análise deste trabalho foram estabelecidas faixas de valores normais para o pH (7,31-7,49), PCO_2 (46-56 mmHg), HCO_3^- (22-30 mEq/L) e BE_{ecf} (-3 a 7 mmol/L) conforme sugestão da literatura (ADAMS et al., 1991; COLLIE, 1991; NAPPERT; NAYLOR, 2001; LISBÔA et al., 2002; NAGY et al., 2003; LEAL et al., 2008; FREITAS, 2009; BELLINO et al., 2012). Na Tabela 2.4 é possível analisar de maneira simples quando esses valores estão fora dos valores de refêrencia e então, classificar o

desiquilíbrio acidobásico de forma primária, ou seja, se é acidose ou alcalose metabólica ou acidose ou alcalose respiratória.

Os valores médios de pH sanguíneo de todos os tratamentos estiveram dentro dos valores estabelecidos como normais, indicando que os animais não apresentaram acidose metabólica nos 3 primeiros dias de diarreia. Na Figura 3.20, é possível observar que os valores médios ficaram entre 7,32 e 7,41. No entanto, é possível que os 3 primeiros dias de diarreia não tenham sido suficientes para provocar queda no pH sanguíneo, causando acidose metabólica nos animais; entretanto, houve queda progressiva e significativa ($P<0,04$) nos valores de pH conforme os dias avaliados. Essa redução do pH ocorre devido às perdas excessivas e progressivas de água e de eletrólitos (Na^+, Cl^-, K^+ e HCO_3^-) pelas fezes durante a diarreia, além também do aumento nas concentrações de íons de H^+ e produção e acúmulo de ácido lático no sangue (ARGENZIO, 1985).

Em um estudo realizado por Freitas (2009), 92 bezerras foram analisadas e dividas em animais apresentando diarreia e animais sadios. O pH sanguíneo até o quarto dia apresentou valores normais (acima de 7,31), porém no 7º dia avaliado 67% dos animais apresentaram valores de pH abaixo de 7,31, indicando acidose, e no 10º dia avaliado 100% dos animais apresentaram pH com valores abaixo dos valores de refêrencia. No 21º dia avaliado, os valores de pH mostram que os animais começaram a se recuperar da acidose, abaixando para 84% de animais acidóticos. Resultados semelhantes foram obtidos por Naylor (1989) que avaliou acidose metabólica em 123 bezerros diarreicos, e concluiu que a acidose metabólica ou a diminuição do pH sanguíneo tende a se agravar conforme os dias que o animal apresenta diarreia.

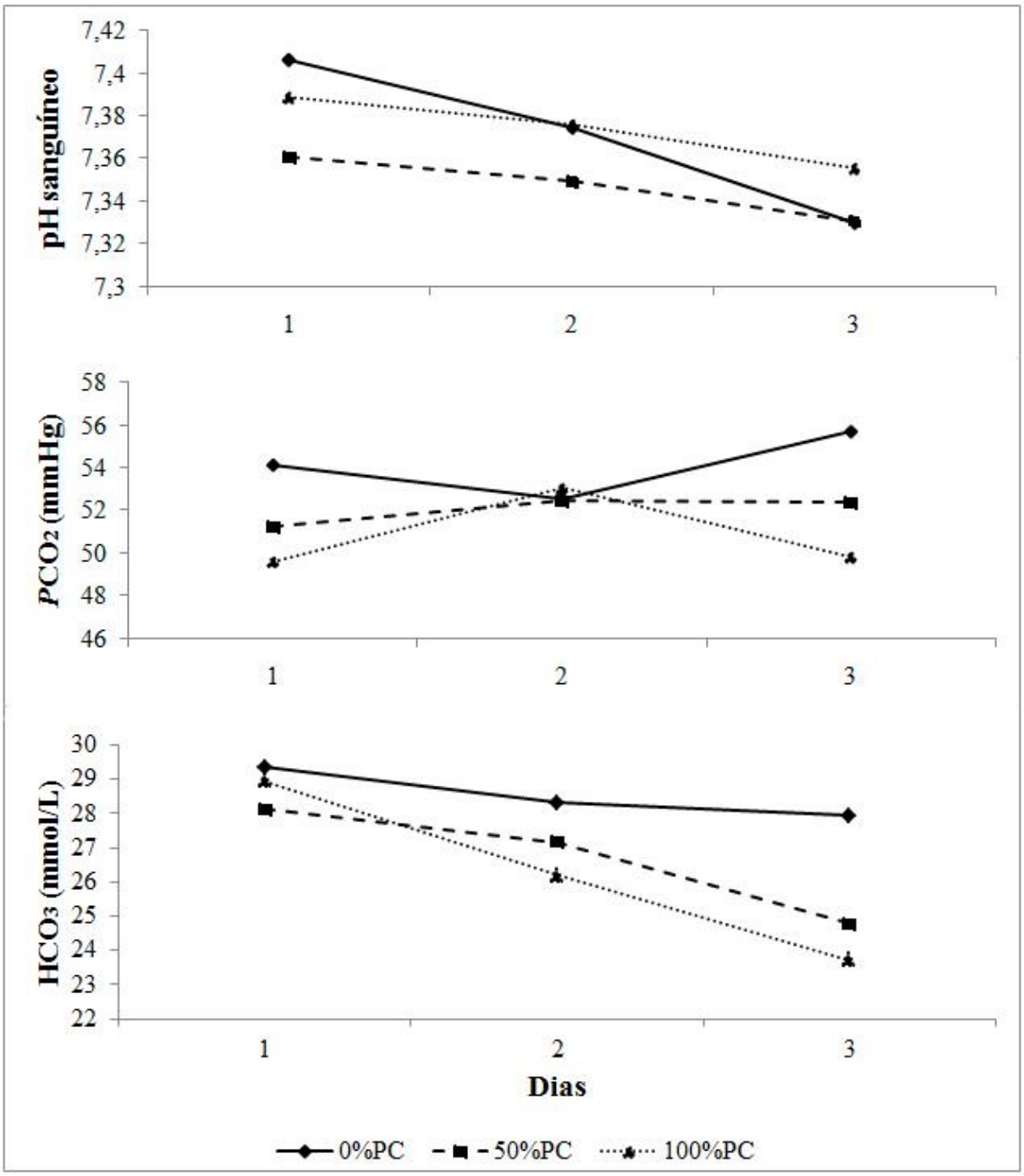

Figura 3.20 - Valores de pH, PCO_2 (mmHg) e HCO_3^- (mmol/L) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Os valores de HCO_3^- (mmol/L) e de PCO_2 (mmHg) de todos os tratamentos estão dentro dos valores de referência, reforçando a ausência de acidose nos animais durante o período inicial de diarreia avaliado. Os valores de HCO_3^- assim como o de pH, teve diferença entre os dias avaliados ($P<0,05$), com progressiva diminuição da concentração plasmática. Estes dados são corroborados pelos resultados de Naylor (1989) e Freitas (2009), que alegam que bezerros diarreicos perdem bicarbonato pelas fezes, fato que ajuda a queda do pH

sanguíneo levando o animal a acidose. Mesmo não havendo diferença significativa entre valores de HCO_3^-, é possível observar na Figura 3.20 que a perda diária de bicarbonato foi maior nos tratamentos onde a inclusão de polpa cítrica foi aumentada.

Apesar dos valores de pH e HCO_3^- apresentarem queda conforme os dias nos animais avaliados durante o período de diarreia, não foram constatados valores anormais abaixo dos valores de referência que indicam distúrbios como ácidose metabólica nos animais.

Em todos os casos de distúrbio acidobásico, é importante analisar o Anion Gap (AnGap), que significa a diferença entre os cátions e ânios presentes no plasma, pois pode apresentar uma desordem mesmo quando o pH está dentro de valores normais. Um aumento do Anion Gap significa que anions plasmáticos não mensurados estão elevados, como lactato (acidose láctica), acetoacetato (cetoacidose), sulfato, fosfato e urato (diminuição da perfusão renal) (ROCCO, 2003).

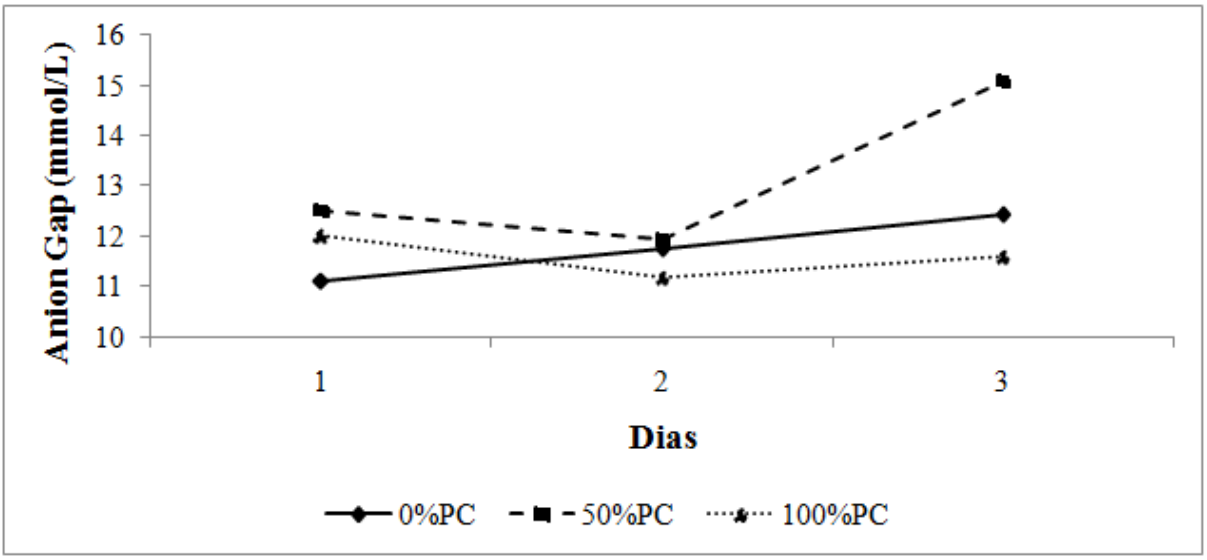

Figura 3.21 - Valores de Anion Gap (mmol/L) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Os valores normais de referência de Anion Gap para bezerros da raça Holandês com até 1 mês de idade é entre 8,5-13,5 mmol/L (KANETO et al., 2004), e está interligado com os valores de sódio, cloreto e bicarbonato observados na Tabela 3.8. Conforme a figura 3.21, com excessão do terceiro dia do tratamento 50% de inclusão de polpa cítrica, com valor de 15,1 mmol/L, os valores de AnGap estão dentro de valores considerados normais, reforçando a ausência de distúrbios metabólicos como a acidose.

O Excesso de Base no fluído extracelular (BE_{ecf}) é outro parâmetro para diagnosticar distúrbios acidobásicos através de medidas de alterações metabólicas do líquido extracelular

(ROCCO, 2003). Segundo trabalho realizado por Nakagawa, Suzuki e Taguchi (2007) bezerros que apresentam valores de BE_{ecf} menores que -10 mmol/L, apresentam acidose metabólica severa. Valores entre -3 a 7 mmol/L são considerados normais, enquanto animais com acidose metabólica apresentaram valores de BE_{ecf} na média de -6 mmol/L (BELLINO et al., 2012). Conforme a Figura 3.22, as análises de BE_{ecf} apresentam valores médios dentro da faixa de referência, significando que os animais de todos os tratamentos não sofreram acidose metabólica.

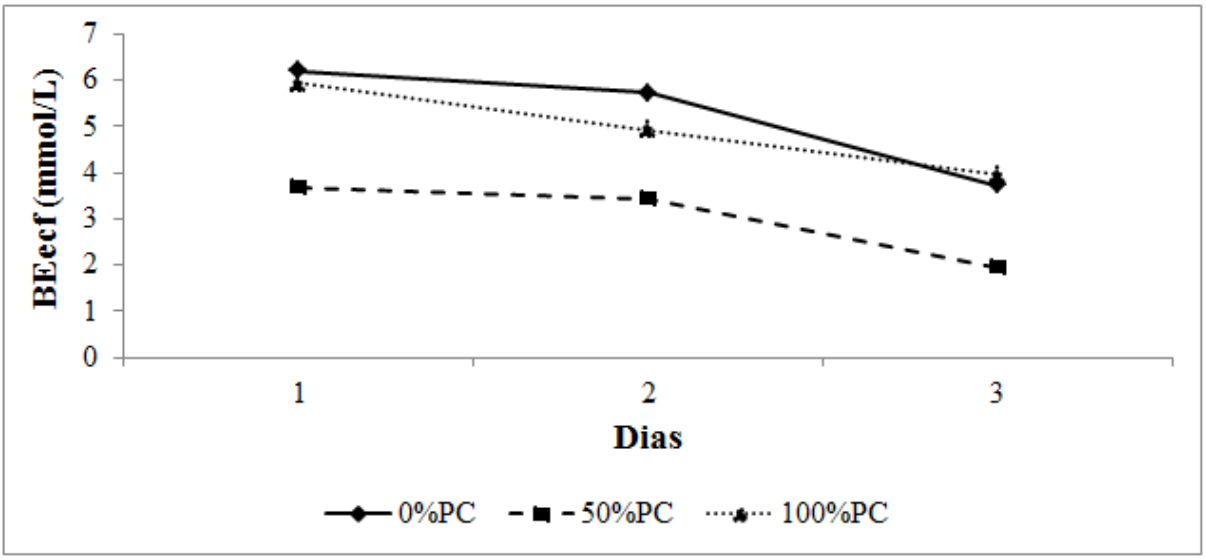

Figura 3.22 - Valores de BE_{ecf} (mmol/L) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

O potássio (K) é um cátion com a importante função reguladora do balanço acidobásico do organismo. Em bezerros com diarreia é comum encontrar quadros de hipercalemia (alta concentração de potássio sérico) (MAACH; GRÜNDER; BOUJIJA, 1992). Concentrações plasmáticas de potássio em bezerros são consideradas normais quando se encontram em torno de 5 mmol/L (MAACH; GRÜNDER; BOUJIJA, 1992). Para Reece (1980), são considerados valores normais para bezerros de 1 a 15 semanas de idade entre 4,4 a 7,2 mmol/L, sendo mais comum bezerros mais novos apresentarem valores superiores. Na Tabela 3.8, valores de potássio encontram-se dentro dos valores considerados normais.

O sódio (Na) é considerado o principal cátion do fluido extracelular, e junto com o cloro (Cl) possui a importante função de manter a pressão osmótica, importante para todo o metabolismo de água do organismo e regulação do equilíbrio acidobásico (HOUPT, 2006). Bezerros que apresentam diarreia tendem a perder sódio pelas fezes. Em trabalho realizado por Maach, Gründer e Boujija (1992) foram estabelecidos valores significativamente mais

baixos de sódio em bezerros com diarreia aguda, com valores até 131,2 mmol/L em comparação com aos bezerros saudáveis da mesma idade, com concentrações médias de 140,0 mmol/L. A concentração ideal de sódio durante os três primeiros meses de vida de um bezerro está em torno de 132-152 mmol/L (BOUDA; JAGOŠ, 1984; CARLSON, 1997; RADOSTITS et al., 2007; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Na Tabela 3.8, apesar dos valores médios de concentação de sódio estarem perto do limite inferior considerado adequado, os mesmos encontram-se dentro dos valores de referência.

O cloro (Cl) é o ânion mais importante do fluído extracelular, pois juntamente com o sódio, tem um papel importantíssimo na manutenção da pressão osmótica. O cloro entra no organismo através da absorção intestinal, e seu excesso é excretado pela urina, porém bezerros com diarreia além de perderem água, perdem significantes quantidade de eletrólitos, como o cloro (HOUPT, 1996; MAACH et al., 1992). Em um estudo realizado por Maach et al. (1992), a concentração de cloro no plasma de bezerros que apresentavam diarreia aguda foi de até 95 mmol/L em comparação a bezerros saudáveis com concentrações médias de 103 mmol/L. Valores considerados normais de cloro no plasma sanguíneo para bezerros de 1 semana a 14 semanas de idade são em torno de 95,0 a 111 mmol/L (REECE, 1980; RADOSTITS et al., 2007; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008; LEAL et al., 2008). Na Tabela 3.8, a concentação média de cloro apresenta valores próximos do limite inferior considerado como adequado, assim como a concentração de sódio.

Em relação ao experimento com inclusão de melaço e xarope de glicose no concentrado inicial, os valores médios dos 3 dias de avaliação de todos os parâmetros gasométricos e eletrolíticos avaliados não apresentaram diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos nem entre os dias avaliados (Tabela 3.9).

Tabela 3.9 - Média do período total das análises gasométricas e de avaliação de eletrólitos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

	Tratamento				EPM[1]	P<[2]		
	0%ME	**5%ME**	**10%ME**	**5%XA**		**T**	**D**	**TxD**
pH	7,31	7,35	7,31	7,36	0,01	0,26	0,40	0,90
HCO_3 (mmol/L)	25,94	29,70	27,43	29,68	1,52	0,29	0,13	0,44
***P*CO_2 (mmHg)**	50,6	53,5	53,9	52,4	1,97	0,65	0,79	0,77
K (mEq/L)	4,84	4,94	5,06	4,83	0,10	0,39	0,99	0,93
Na (mEq/L)	135,5	137,2	134,3	135,7	0,98	0,23	0,22	0,29
Cl (mmol/L)	100,6	99,9	98,6	97,2	1,10	0,17	0,59	0,33
AnGap (mmol/L)	13,90	12,63	13,46	13,54	0,50	0,32	0,14	0,46
BE_{ecf} (mmol/L)	-0,25	4,14	1,25	4,18	1,78	0,28	0,14	0,45
Hb (g/dL)	7,87	9,34	10,17	8,61	0,91	0,36	0,86	0,30

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; TxD = interação entre efeitos de tratamento e dias

Para validar alguns dados gasométricos, como pH, HCO_3^- e *P*CO_2 é utilizada a equação de Henderson-Hasselbach(1), que compara os resultados com os dados obtidos do pH.

$$\text{(1)}\ \mathbf{pH=5{,}10 + \log([HCO_3^-]/[PCO_2 \times 0{,}003060])}$$

Os dados resultantes da equação de Henderson-Hasselbach dos tratamentos 0%ME, 5%ME, 10%ME e 5%XA foram de pH = 7,32, 7,36, 7,32 e 7,37, respectivamente, apresentando valores de pH iguais ou bem próximos aos obtidos (Tabela 3.9) pela metodologia utilizada neste experimento.

Para diagnosticar um distúrbio acidobásico é importante estabelecer valores normais de referência para categoria da espécie estudada e trabalhos realizados por vários autores (ADAMS, 1991; COLLIE, 1991; NAPPERT; NAYLOR, 2001; LISBÔA et al., 2002; NAGY, 2003; LEAL et al., 2008; FREITAS, 2009; BELLINO et al., 2012) sugerem valores de referêcia de *P*CO_2 entre 46-56 mmHg e valores de referência de BE_{ecf} entre -3 a 7 mmol/L.

Embora não tenha havido diferença estatística entre os tratamentos, a inclusão de 5%ME e 5%XA no concentrado resultou em valores de pH considerados normais, o tratamento com inclusão de 10%ME valores no limite inferior (≅ 7,31) e o tratamento com 0%ME valores baixos (pH=7,29), de acordo com os valores de referência, indicando acidose

nos animais, principalmente no segundo dia de avaliação. Entretanto, os valores de pH não apresentaram efeito do dia de avaliação após o diagnóstico de diarreia.

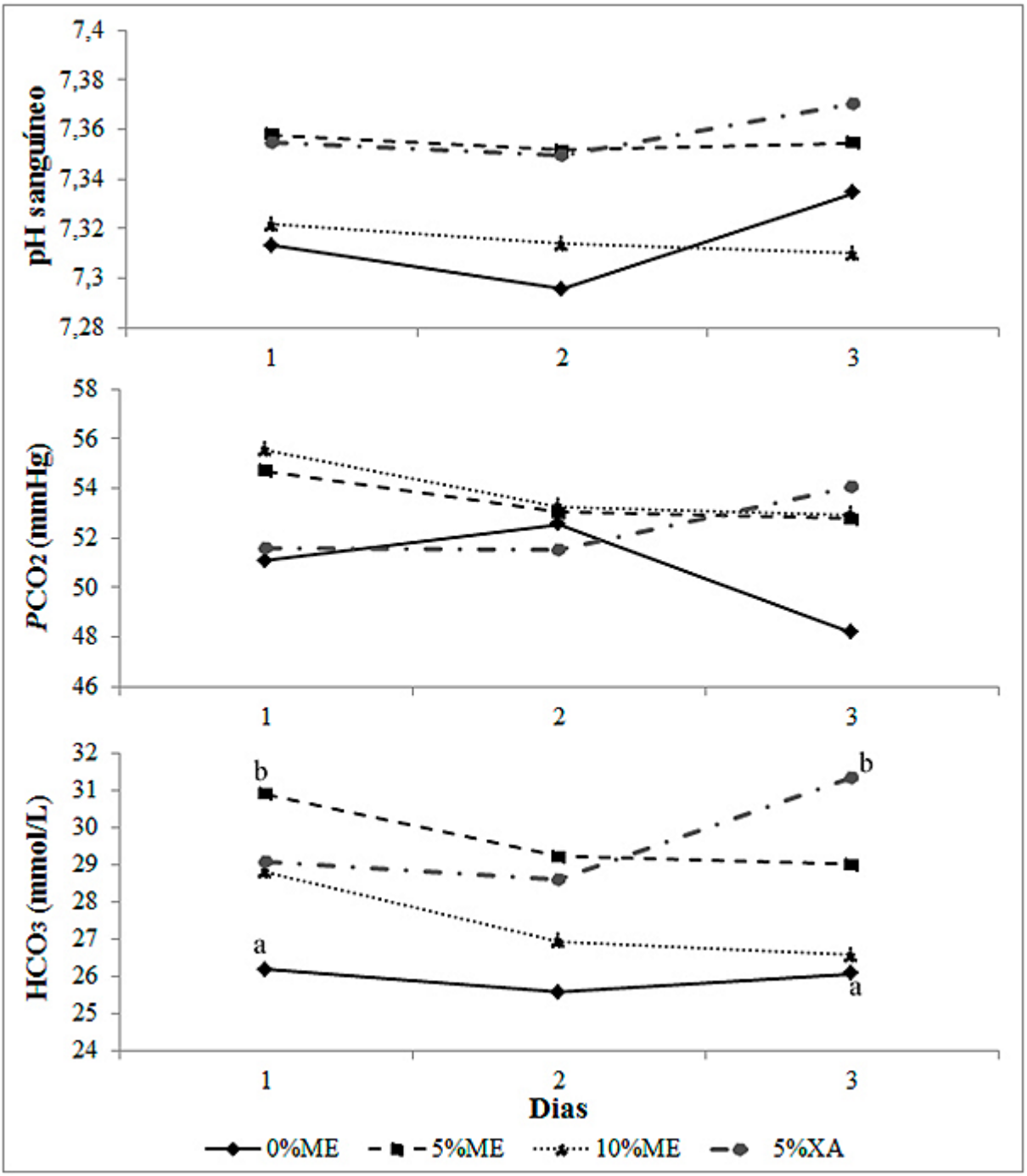

Figura 3.23 - Valores de pH, PCO_2 (mmHg) e HCO_3^- (mmol/L) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

Os valores de HCO_3^- (mmol/L) e de PCO_2 (mmHg) de todos os tratamentos estão dentro dos valores de referência. Os valores médios de HCO_3^- apresentaram um pequeno descréscimo com os dias de avaliação; fato também constatado por Naylor (1989) e Freitas

(2009) que afirmam que é normal animais apresentando diarreia perderem HCO_3^- pelas fezes. Houve uma diferença (P<0,05) no primeiro dia de avaliação entre os tratamentos 0%ME e 5%ME e no terceiro dia (P<0,04) entre os tratamentos 0%ME e 5%XA, em relação aos valores de HCO_3^- (Figura 3.23).

Em geral apesar das diferenças observadas na Figura 3.23, não houve efeito negativo no aumento de inclusão de melaço ou de xarope de glicose no concentrado referente aos parâmetros discutidos como pH sanguíneo, HCO_3^- (mmol/L) e PCO_2 (mmHg), que são dados essenciais para diagnosticar quadros de acidose metabólica consequente de quadros de diarreia em bezerros (WALKER et al., 1998).

Mesmo quando valores de pH, HCO_3^- e PCO_2 estiverem normais, a análise de Anion Gap (AnGap) é importante para assegurar o diagnóstico, pois valores elevados de AnGap podem indicar altas concentrações de anions plasmáticos não mensurados (ROCCO, 2003).

Os valores normais de referência de Anion Gap para bezerros da raça Holandês com até 1 mês de idade é entre 8,5-13,5 mmol/L (KANETO et al., 2004). Conforme a figura 3.24, com excessão do tratamento 5% de inclusão de melaço, foram observados valores acima do considerado normal (>13,5 mmol/L), sendo um forte indicador de que os animais apresentavam uma leve acidose metabólica, apesar dos valores de Na, K e Cl estarem dentro dos valores considerados normais (Tabela 3.9).

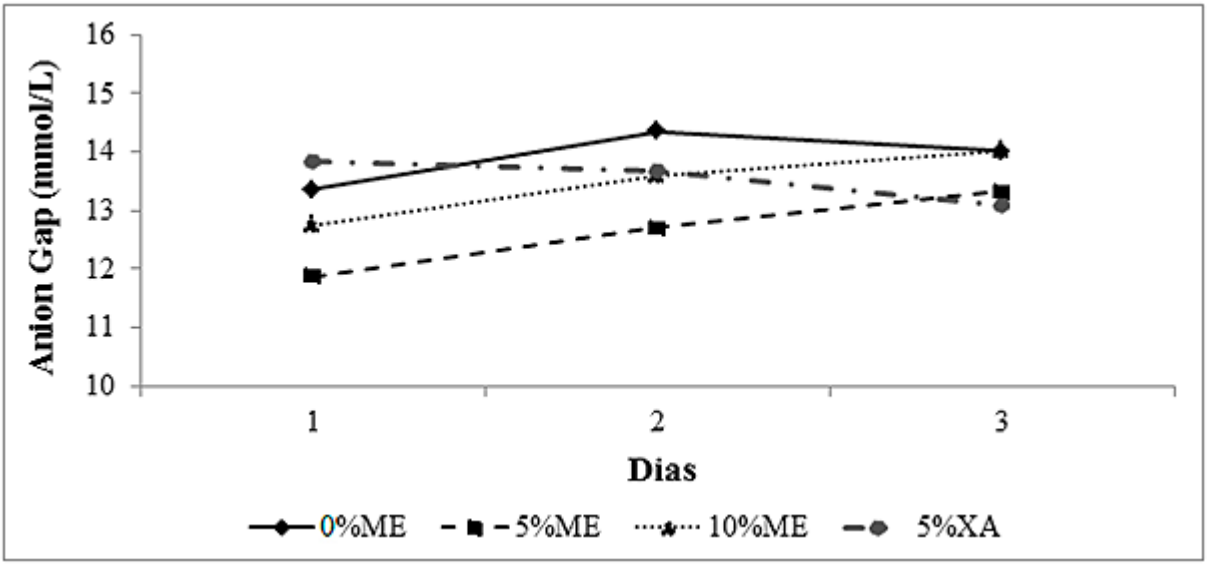

Figura 3.24 - Valores de Ânion Gap (mmol/L) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

O Excesso de Base no fluído extracelular (BE_{ecf}) é outro parâmetro para diagnosticar distúrbios acidobásicos, valores considerados normais estão entre -3 a 7 mmol/L, valores médios de -6 mmol/L representa acidose metabólica moderada e valores médios de -10

mmol/L representa acidose metabólica severa (NAKAGAWA; SUZUKI; TAGUCHI, 2007; BELLINO et al., 2012). Conforme a Figura 3.25, as análises de BE_{ecf} apresentam valores médios dentro da faixa de referência, significando ausência de distúrbios metabólicos.

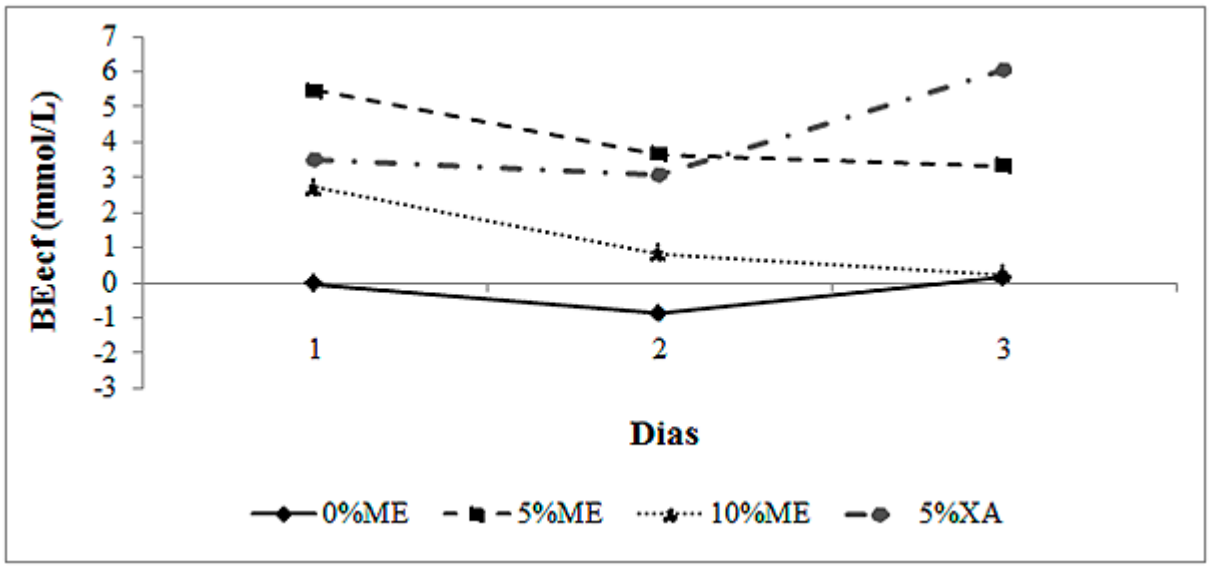

Figura 3.25 - Valores de BE_{ecf} (mmol/L) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

O potássio (K), o sódio (Na) e o cloro (Cl) são eletrólitos importantes com função reguladora do balanço acidobásico do organismo (HOUPT, 2006). De acordo com os valores observados (Tabela 3.9), as concentrações de Na, Cl e K encontram-se dentro dos valores normais, não apresentando diferença (P>0,05) com o dia de avaliação após o diagnóstico de diarreia.

Como diagnóstico geral através das análises gasométricas e eletrolíticas, apesar de não ter havido diferença estatística (P>0,05), os animais dos tratamentos com 0% e 10% de inclusão de melaço no concentrado apresentaram análises próximas ao limite considerados como aceitáveis, indicando que provavelmente sofreram quadros leves de acidose metabólica durante os três primeiros dias de diarreia quando foram avaliados. Com isso é importante ressaltar, que o aumento gradativo de melaço no concentrado não interferiu de maneira negativa em relação a esses fatores mencionados e avaliados.

3.3.7 Análises bioquímicas plasmáticas

Às analises relativas ao experimento incluindo polpa cítrica no concentrado inicial para bezerros, não obteve diferença entre os tratamentos (P>0,05) nos valores médios dos componentes bioquímicos plasmáticos analisados, com exceção de lactato total, L-lactato e D-lactato (Tabela 3.10). Também não foram observados efeitos do dia de avaliação após o

diagnóstico de diarreia ou da interação da composição do concentrado e do dia de avaliação (P>0,05).

Tabela 3.10 - Média do período total dos componentes bioquímicos plasmáticos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

	Tratamento			**EPM[1]**	**P<[2]**		
	0%PC	**50%PC**	**100%PC**		**T**	**D**	**TxD**
β-HBA (mmol/L)	0,052	0,051	0,070	0,008	0,23	0,43	0,39
Glicose (mg/dL)	83,51	87,24	86,11	6,07	0,92	0,74	0,79
Proteinas Totais (g/dL)	5,51	5,56	5,48	0,89	0,99	0,15	0,83
Albumina (g/dL)	3,06	2,82	2,74	0,19	0,55	0,72	0,22
NUP (mg/dL)	7,9	8,7	7,3	1,53	0,76	0,40	0,84
Lactato total (mg/dL)	20,79[b]	16,00[a]	23,78[b]	1,87	0,03	0,13	0,15
D-Lactato (mg/dL)	14,71[b]	9,17[a]	14,36[b]	0,84	0,001	0,09	0,24
L-Lactato (mg/dL)	6,08[a]	6,83[a]	9,42[b]	0,65	0,02	0,33	0,13

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; TxD = interação entre efeitos de tratamento e dias

A concentração plasmática de β-hidroxibutirato (β-HBA) é uma ferramenta importante para avaliar o desenvolvimento ruminal de bezerros, já que conforme o avanço da idade, o tecido epitelial do rúmen desses animais tendem a oxidar mais ácidos graxos de cadeia curta, como o butirato (QUIGLEY; SMITH; HEITMANN, 1991). De acordo com Santos (2006) bezerros em desenvolvimento que possuem um índice de consumo de concentrado inicial adequado entre os 2 primeiros meses de vida resultam em concentrações plasmáticas entre 0,1 a 0,3 mmol/L.

Os animais que apresentaram diarreia e foram avaliados, resultaram em concentrações baixas indicando que o rúmens dos animais estavam ainda pouco desenvolvidos e que a principal fonte energética era proveniente da lactose da dieta líquida. Toullec e Guilloteau (1989) afirmam que bezerros com o sistema digestório anterior não desenvolvido não possuem capacidade de digestão e absorção de determinados alimentos provenientes de origem vegetal, podendo então acarretar distúrbios metabólicos quando alimentandos com dietas inadequadas. Em contrapartida, valores baixos de β-hidroxibutirato e outros corpos cetônicos pode ser um bom parâmetro para alegar um bom quadro nutricional do animal. Quando o nível de glicose do organismo diminui devido a uma perda de nutrientes ou

insuficiente ingestão de alimentos consequente de um distúrbio gastrointestinal, ocorre um aumento de corpos cetônicos circulantes com a finalidade de fornecer energia aos tecidos, distúrbio então denominado de cetose secundária (HEIDRICH; GRUNER; VASKE, 1980). De acordo com os valores de β-HBA observados na Tabela 3.10, a baixa concentração do corpo cetônico significa que, os animais do experimento apresentavam rúmen pouco desenvolvido e não apresentavam cetose secundária.

De acordo com Davis e Dackley (1998) a digestão e aproveitamento de dissacarídeos ou polissacarídeos são extremamente baixos em bezerros nas primeiras semanas de vida. De acordo com Haga et al. (2008), a glicose proveniente da lactose presente no leite ou no sucedâneo lácteo é principal fonte energética para esses animais, mas com o avanço da idade as concentrações de glicose no plasma tendem a diminuir. Segundo Swenson; Reece (1996), valores de glicose em bezerros em aleitamento variam de 80 a 120 mg/dL; entretanto, bezerros apresentando diarreia podem apresentar hipoglicemia em decorrência da anorexia, má digestão e absorção e, por conseguinte, da redução da gliconeogênese hepática e aumento da glicólise anaeróbica (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Entretanto, as médias de concentrações de glicose (Tabela 3.10) apresentaram valores considerados normais, o que pode ser atribuído ao manejo dos animais que eram estimulados a alimentação líquida mesmo apresentando diarreia.

Avaliações de proteínas totais plasmáticas são utilizadas como parâmetros para avaliar o estado geral do animal, tanto o estado nutricional como o estado clínico, pois elevadas concentrações de proteína total podem representar desidratação ou alguma outra moléstia no organismo (LUCA; REIS, 2001). Os resultados observados neste trabalho (Tabela 3.10) mostram valores próximos aos considerados normais de acordo com Bartlett et al. (2006) e El-sheikh et al. (2012).

Das proteínas totais, cerca de 50 a 65% é constituída de albumina, sendo então considerada a proteína mais abundante no plasma sanguíneo. A albumina é fundamental para a manutenção da pressão osmótica, necessária para a distribuição correta dos líquidos corporais entre o compartimento intravascular e o extravascular, localizado entre os tecidos. (LIMA et al., 2012; PEKCAN et al., 2012). Os resultados de albumina observados neste trabalho (Tabela 3.10) corroboram com os resultados considerados normais por El-sheikh et al. (2012) e Pekcan et al.(2012), representando uma média de 52% da média total relativo às concentrações de proteínas totais do plasma apresentado neste trabalho.

A concentração de nitrogênio ureico no sangue depende de alguns fatores como nutrição, estado fisiológico do animal, raça e doenças como diarreia e problemas no rim.

Bezerros com diarreia apresentam concentrações plasmáticas de nitrogênio ureico acima do normal (HAMMOND, 1998; KLINKON; JEŽEK, 2012). Segundo Steinhardt e Thielscher (2000) em bezerros a concentração de NUP diminui ligeiramente desde o nascimente até os dois meses de idade, com o valor médio de 2,7 mg/dL. De acordo com Knowles et al. (2000), os valores de NUP apresentam pequeno aumento com o avanço da idade, devido ao aumento da capacidade do epitélio ruminal de absorver amônia e no fígado ser convertida em ureia.

Em um estudo realizado por Seifi et al. (2006), bezerros Holandeses sadios, de idade média de 2 semanas, apresentaram concentrações médias de NUP entre 4,65 - 7,68 mg/dL, enquanto em bezerros com diarreia esta concentração foi entre 10,75 mg/dL até 28,61 mg/dL nos casos mais severos. Com isso os autores concluíram que valores de NUP são úteis para avaliar a desidratação e quadros de acidose metabólica nos animais. Já Freitas (2009) obteve valores um pouco superiores, com animais sadios apresentando concentrações entre 7,2 a 11,6 mg/dL e animais apresentando diarreia com mais de uma semana com valores entre 15,2 a 23,3 mg/dL.

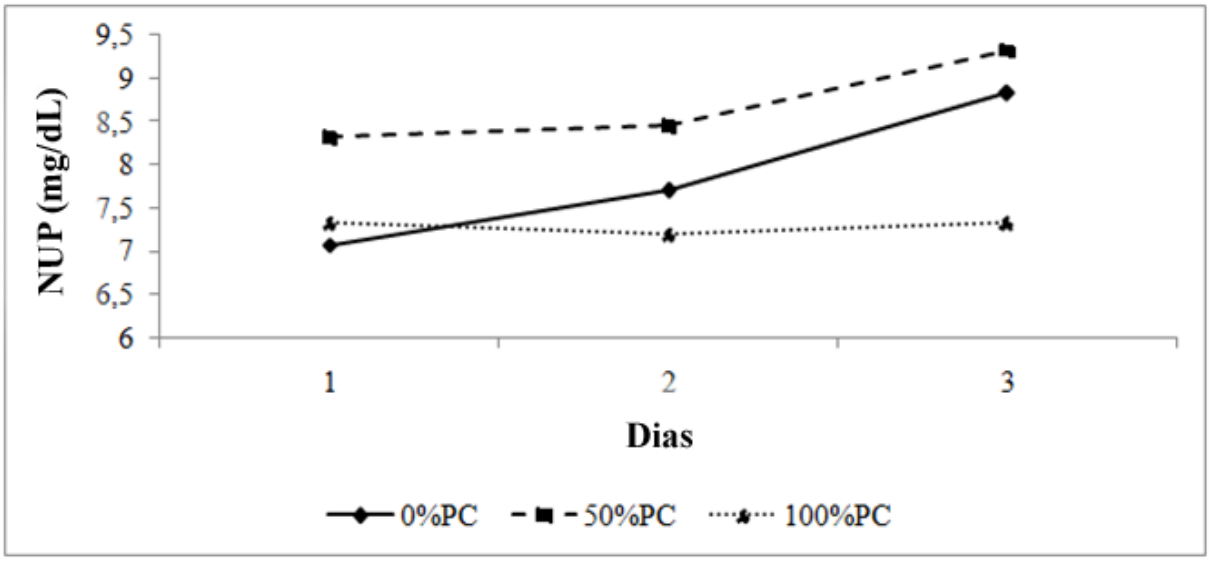

Figura 3.26 - Valores de Nitrogênio Ureico Plasmático (NUP) (mg/dL) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

Conforme a Figura 3.26, as concentrações de NUP apresentam valores normais conforme trabalhos realizados por Seifi et al. (2006) e Freitas (2009). Esses valores normais, reforçam o quadro clínico realizado junto com os valores de pH sanguíneo e concentrações de eletrólitos (Figura 3.20, 3.21 e 3.22), indicando ausência de desidratação e ausência de distúrbio metabólico nos animais diarréicos, independentemente da composição do concentrado consumido.

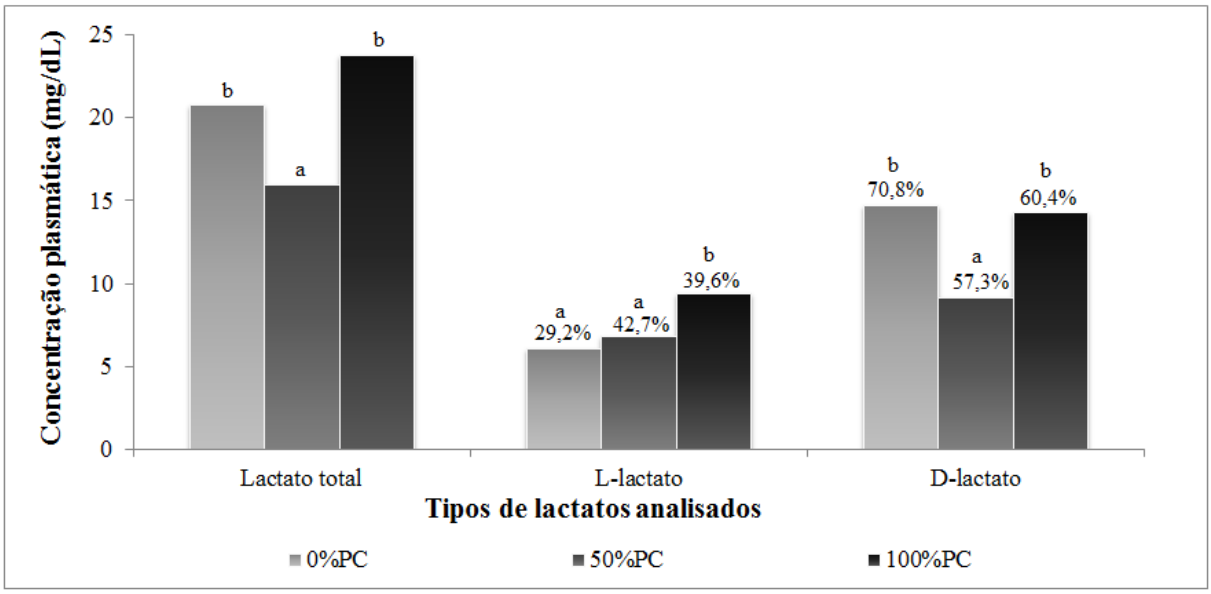

Figura 3.27 - Concentrações plasmáticas de Lactato total, D-lactato e L-lactato (mg/dL) e valores relativos (%) em relação ao Lactato total de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de polpa cítrica

A acidose metabólica consequente da diarreia em bezerros pode se agravar devido à produção e aumento de concentrações de ácido lático no organismo (MILLEMANN, 2009). O L-lactato é um dos ácidos responsáveis pela acidose, e tem seu aumento por consequência da desidratação ou por baixa eficiência do fígado consequente de um quadro de endotoxemia (OMOLE et al., 2001). Além do L-lactato, o D-lactato também é outro ácido responsável pelo distúrbio acidótico, e está relacionado com alimentos mal digeridos no trato gastroinstestinal, o que favore a proliferação de bactérias produtoras de D-lactato, normalmente em animais com acidose metabólica severa (EWASCHUCK et al., 2004).

Para diagnosticar acidose metabólica através de valores de lactato, é preciso estabelecer valores de referência considerados normais para bezerros sadios. Concentrações plasmáticas de lactato total são consideradas normais entre os valores de 6 a 22 mg/dL; concentrações plasmáticas de L-lactato de até 11,8 mg/dL; e de D-lactato de até 3,9 mg/dL são considerados aceitáveis (KASARI; NAYLOR, 1986; LORENZ; HARTMANN; GENTILE, 2003; BAŞOĞLU; AYDOĞDU, 2013).

Em um estudo realizado por Trefz et al. (2012), utilizando 89 bezerros acima de 7 dias de idade apresentando diarreia naturalmente adquirida, foram observadas concentraçôes de L-lactato plasmático igual a 16 mg/dL, com casos de acidose severa com concentrações de até 40 mg/dL de L-lactato. Ewaschuk et al. (2004) realizaram um experimento utilizando 27 bezerros com menos de 35 dias de idade, e analisaram concentrações de L- e D-lactato, e

observaram que os valores de L-lactato não diferiram (P<0,05) entre os animais sadios e animais doentes. Entretanto, os valores de D-lactato foram bem maiores (13,9±5,1 mg/dL) nos animais doentes em comparação com os animais sadios (1,4±0,4 mg/dL). Lorenz (2004) realizou um trabalho relacionando valores D-lactato com escore clínico de animais apresentando diarreia e acidose metabólica, e concluiu que quanto maior a concentração desse ácido, pior é o estado clínico do bezerro apresentando diarreia e acidose metabólica.

Conforme a Figura 3.27, é possível observar que os tratamentos com 0% e 100% de inclusão de polpa cítrica no concentrado inicial estão nos limites considerados ideais para concentração de lactato total plasmático. Além disso, todos os tratamentos apresentaram valores de D-lactato acima do ideal, em contrapartida, as concentrações médias de L-lactato estiveram dentro dos valores considerados normais.

Apesar dessas diferenças, é possível afirmar que os animais não apresentaram acidose metabólica severa; entretanto é importante ressaltar que chegaram a valores próximos para serem considerados acidóticos.

O aumento de polpa cítrica não foi o fator responsável pela alta concentração de D-lactato, que normalmente pode ser consequência a dietas inadequadas fornecidas aos bezerros com rúmen não desenvolvido, fato que comprova isso é que o tratamento com 0% de inclusão de polpa cítrica foi o que obteve maior valor médio de concentração de D-lactato (14,71 mg/dL).

A composição do concentrado inicial, com inlcusão de melaço ou xarope de glicose em substituição ao milho, não alterou (P>0,05) parâmetros bioquímicos no plasma de bezerros em aleitameto (Tabela 3.11). Também não houve efeito do dia de avaliação ou da interação do dia após o diagnóstico de diarreia e da composição do concentrado (P>0,05).

Tabela 3.11 - Média do período total dos componentes bioquímicos plasmáticos de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

	Tratamento				EPM[1]	P<[2]		
	0%ME	5%ME	10%ME	5%XA		T	D	TxD
β-HBA (mmol/L)	0,057	0,074	0,058	0,050	0,008	0,25	0,95	0,29
Glicose (mg/dL)	79,89	85,43	84,45	80,21	3,12	0,47	0,51	0,78
Proteinas Totais (g/dL)	6,83	7,09	6,70	6,66	0,32	0,77	0,11	0,50
Albumina (g/dL)	3,41	3,08	2,91	3,03	0,12	0,06	0,70	0,84
NUP (mg/dL)	7,61	6,83	8,20	5,75	1,02	0,44	0,17	0,80
Lactato total (mg/dL)	16,94	14,62	19,34	14,92	2,98	0,09	0,24	0,19
D-Lactato (mg/dL)	6,49	4,68	7,58	4,36	1,04	0,67	0,52	0,22
L-Lactato (mg/dL)	10,45	9,93	11,76	10,56	1,90	0,92	0,19	0,95

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamento; D = efeito de dias avaliados; TxD = interação entre efeitos de tratamento e dias

De acordo com os valores de β-HBA observados na Tabela 3.11, os animais que apresentaram diarreia e foram avaliados, resultaram em concentrações baixas (<0,1 mmol/L) indicando que o rúmen dos animais estava ainda pouco desenvolvidos, entretanto esse fato indica também ausência de cetose secundária proveniente de perda de nutrientes, hipoglicemia ou insuficiente ingestão de alimentos.

Em bezerros apresentando diarreia é comum observar hipoglicemia (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008); entretanto, os valores de glicose observados neste trabalho (Tabela 3.11), estão dentro da faixa considerada como adequada para bezerros jovens (SWENSON; REECE, 1996).

De acordo com Hamoond (1998) e Klinkon e Ježek (2012), bezerros com incidência de diarreia, seguida de desidratação, apresentam concentrações plasmáticas de nitrogênio ureico acima do normal. Bezerros sadios apresentaram concentrações médias de NUP entre 4,65 - 7,68 mg/dL, enquanto bezerros com diarreia apresentaram concentrações médias de 10,75 mg/dL até 28,61 mg/dL nos casos mais severos (SEIFI et al., 2006).

De acordo com a Figura 3.28, é possível observar que os tratamentos com 0% e 10% de inclusão de melaço no concentrado apresentaram valores acima do considerado normal; entretanto, esses valores não ultrapassaram a concentração de 10,75 mg/dL, sugeridos por Seifi et al. (2006), podendo então sugerir que os animais desses dois tratamentos apresentaram leve distúrbio acidótico.

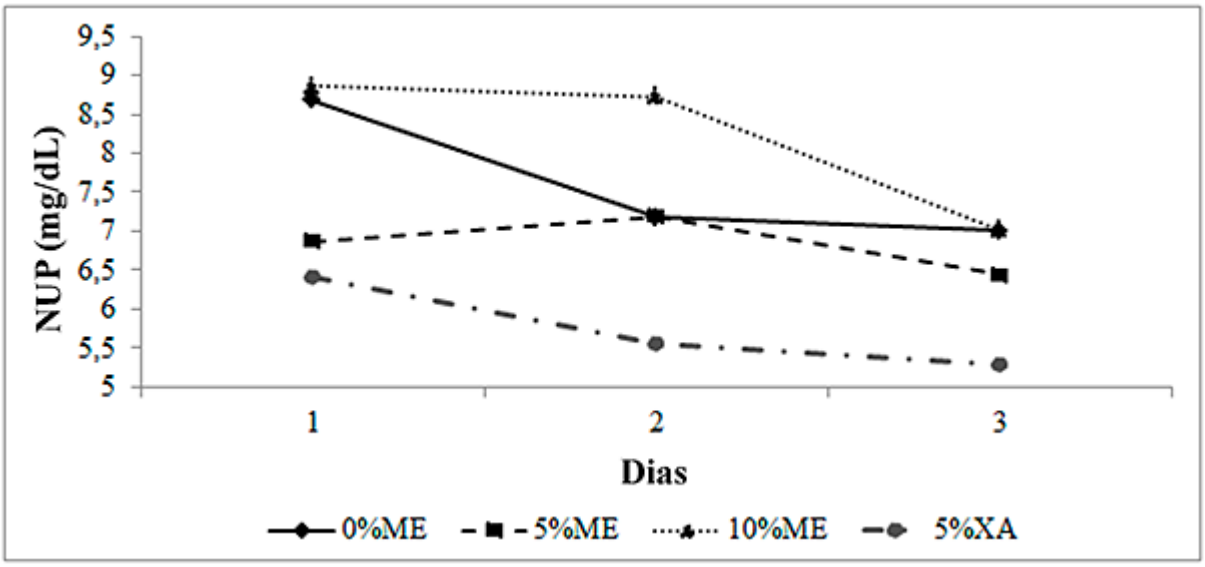

Figura 3.28 - Valores de Nitrogênio Ureico Plasmático (NUP) (mg/dL) de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

A acidose metabólica consequente da diarreia em bezerros pode se agravar devido à produção e aumento de concentrações de ácido lático no organismo, como o D-lactato e L-lactato (OMOLE et al., 2001; MILLEMANN, 2009).

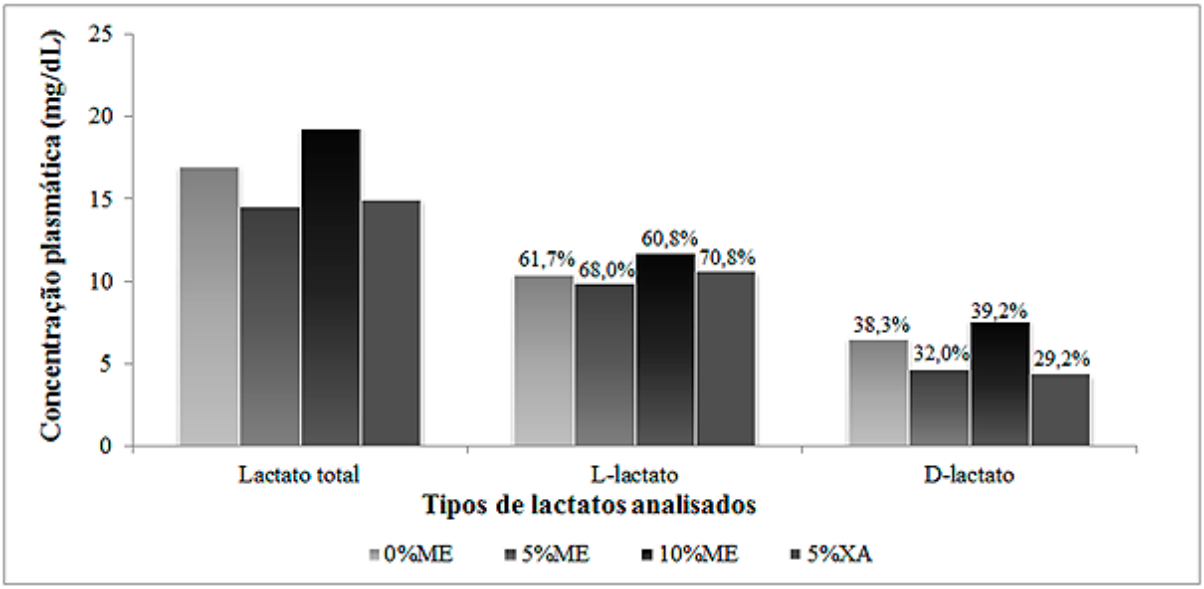

Figura 3.29 - Concentrações plasmáticas de Lactato total, D-lactato e L-lactato (mg/dL) e valores relativos (%) em relação ao Lactato total de bezerros com diarreia recebendo concentrado com diferentes níveis de melaço e xarope de glicose

Concentrações plasmáticas de lactato total são consideradas normais entre os valores de 6 a 22 mg/dL, concentrações plasmáticas de L-lactato de até 11,8 mg/dL e de D-lactato de até 3,9 mg/dL são considerados aceitáveis (KASARI; NAYLOR, 1986; LORENZ;

HARTMANN; GENTILE, 2003; BAŞOĞLU; AYDOĞDU, 2013). De acordo com a Figura 3.29, os valores médios de lactato total e L-lactato observados em bezerros diarreicos apresentou-se dentro de valores considerados normais, indicando ausência de acidose metabólica. Entretanto, os valores de D-lactato apresentaram-se acima do considerado normal.

3.4 Conclusões

Os resultados permitem sugerir que todos os casos de diarreia foram de origem infecciosa, não havendo efeito na sua severidade e alterações metabólicas em resposta da inclusão de coprodutos da agroindústria em substituição ao milho no concentrado inicial de bezerros leiteiros. Assim, a inclusão polpa cítrica, melaço ou xarope de glicose pode ser realizada sem prejuízos a saúde intestinal e ao metabolismo de bezerros jovens.

As avaliações durante apenas 3 primeiros dias após o diagóstico da diarreia podem não ter sido suficientes para que os animais apresentassem elevado nível de desidratação e acidose metabólica.

Além da dieta fornecida aos bezerros, vários outros fatores tem relação com a ocorrência de diarreia e suas consequências ao organismo do animal, como colostragem, clima, práticas de manejo, instalações, capacidade do organismo de cada bezerro a combater agentes patológicos e também a se recuperar de uma anormalidade fisiológica.

Referências

ADAMS, R.; HOLLAND, M.D.; ALDRIDGE, B.; GARRY, F.B.; ODDE, K.G. Arterial blood sample collection from the newborn calf. **Veterinary Research Communications,** Amsterdam, v. 15, p. 387-394, 1991.

ARGENZIO, R.A. Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice,** Philadelphia, v. 1, n. 3, p. 461-469, 1985.

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 77, n. 7, p. 2044-2050, 1994.

ASSANE, M.; DARDILLAT, C. Influence d' une supplémentation solide sur la physiopathologie digestive du veau préruminant. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Toulouse, v. 145, n. 6, p. 461-469, 1994.

ASSIS, A.J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, A.L.R.; MENDES NETO, J.; MENDONÇA, S.S.; SOARES, C.A. Polpa cítrica em dietas de vacas em lactação 3. Consumo e efeito do período de coleta sobre a digestibilidade dos nutrientes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, SBZ, 2001.1 CD-ROM.

AZZAM, S.M.; NIELSEN, M.K. WERTH, L.A.; GREGORY, K.E.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M. Environmental effects on neonatal mortality of beef calves. **Journal of Animal Science,** Champaign, v. 71, p. 282-290, 1993.

BAETA, F.C.; MEADOR, N.F.; SHANKLIN, M.D.; JOHNSON, H.D. **Equivalent temperature index at temperatures above the thermoneutral for lactating dairy cows.** St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1987. 21 p. (Paper, 87-4015).

BAMPIDIS, V.A.; ROBINSON, P.H. Citrus by products as ruminant feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology,** Amsterdam, v. 12, n. 2, p. 1-43, 2006.

BAQUERO-PARRADO, J.R. Consideraciones clínicas y regulación del equilíbrio ácido-base em ganado bovino. **Revista U.D.C. A Atualidade y Divulgação Científica**, Bogotá, v. 11, n. 2, p. 85-100, 2008.

BARTLETT, K.S.; McKEITH, F.K.; VANDEHAAR, M.J.; DAHL, G.E.; DRACKLEY, J.K. Growth and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein at two feeding rates. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1454-1467, 2006.

BAŞOĞLU, A.; AYDOĞDU, U. Terminal atrial standstill with ventricular escape rhythm in a neonatal calf with acute diarrhea. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Science,** Ancara, v. 37, p. 1202-1227, 2013.

BELLINO, C.; ARNAUDO, F.; BIOLATTI, C.; BORRELI, A.; GIANELLA, P.; MAURELLA, C.; ZABALDANO, G.; CAGNASSO, A.; D´ANGELO, A. Development of a dignostic diagram for rapid field assessment of acidosis severity in diarrheic calves. **Journal**

of the American Veterinary Medical Association, Schaumburg, v. 240, n. 3, p. 312-316, 2012.

BERMAN, A.; FOLMAN, Y.; KAIM, M.; MAMEN, M.; HERZ, Z.; WOLFENSON, D.; ARIELI, A.; GRABER, Y. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 68, n. 6, p. 1488-1495, 1985.

BIRGEL JUNIOR, E.H.; D´ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H. Valores de referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science,** São Paulo, v. 37, n. 3, p. 136-141, 2001.

BOHMAN, V.R.; TRIMBERGER, G.W.; LOOSLI, J.K.; TURK, K.L. The utilization of molasses and urea in the rations of growing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 37, n. 3, p. 284-293, 1954.

BOTTEON, R.C.C.M.; BOTTEON, P.T.L.; SANTOS JÚNIOR, J.C.B.; PINNA, M.H.; LÓSS, Z.G. Freqüência de diarréia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba – Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science,** São Paulo, v. 45, n. 2, p. 153-160, 2008.

BOUDA, J.; JAGOŠ, P.Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. **Acta Veterinaria (Brno),** Tchecoslovaquia, v. 53, n. 3/4, p. 137-142, 1984.

BRIGGS, H.M.; HELLER, V.G. The effect of adding blackstrap molasses to a lamb-fattening ration. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 60, n. 1, p. 65-72, 1940.

BROWN, W.F.; JOHNSON, D.D. Effects of energy and protein supplementation of ammoniated tropical grass hay on the growth and carcass characteristics of cull cows. **Journal of Animal Science,** Champaign, v. 69, p. 348-357, 1991.

BROWN, W.F.; PHILLIPS, J.D.; JONES, D.B. Ammoniation or cane molasses supplementation of low quality forages. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, p. 1205-1214, 1987.

BURCIAGA-ROBLES, L.O.; STEP, D.L., KREHBIEL, C.R.; HOLLAND, B.P.; RICHARDS, C.J.; MONTELOGO, M.A.; CONFER, A.W.; FULTON, R.W. Effects of exposure to calves persistently infected with bovine viral diarrhea virys type 1b and subsequent infection with *Mannheima haemolytica* on clinical signs and immune variables: model for bovine respiratory disease via viral and bacterial interaction. **Journal of Animal Science,** Champaign, v. 88, p. 2166-2178, 2010.

CASTRO, J.O.; CAMPOS, A.T.; SOUSA, F.A.; SOUZA, C.V.; SANTOS, G.C.; AGUIAR, E.F.; ALMEIDA, A.K. Índice de temperatura equivalente para vacas leiteiras no município de Diamantina-MG. In: ZOOTEC 2009, 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Brasília: Associação Brasileira de Zootecnia, 2009. p. 1-4.

CARLSON, G.P. Fluid electrolyte and acid-base balance. In: KANECO, J. **Clinical biochemistry of domestic animals.** 5th ed. London: Academic, 1997. p. 485-515.

COLLIE, D.D.S. Blood gas and acid-base values in calves, sampled from the brachial and coccygeal arteries. **British Veterinary Journal**, London, v. 147, n. 3, p. 232-237, 1991.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira**: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2012. Brasília, 2012. p. 4-7.

COSTA, J.N.; PEIXOTO, A.P.C.; FREITAS, M.; FERREIRA, A.F.M.S.C. Avaliação clínico-laboratorial de bezerros da raça Jersey submetidos a tratamento profilático contra anaplasmose bovina. **A Hora Veterinária,** Porto Alegre, n. 148, p. 24-27, 2005.

DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. p. 303-313.

DE PAULA, M.R. **Alterações no metabolismo energético e no desempenho de bezerros leiteiros em programas de aleitamento intensivo ou convencional**. 2012. p. 45-57. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

EL-SHEIKH, A.K.R.; MORSY, H.M.S.; ABBAS, T.H.A.; ABDELZARIK, W.M. Clinical and laboratory examinations of diarrhea and dehydration in newborn Friesian calves with special reference to therapy with hypertonic and isotonic solution. **Life Science Journal**, New York, v. 9, n. 4, p. 181-184, 2012.

ESPINOZA, E.; GONZÁLEZ, N.; ASO, P.; CABALLERO, H.; FUENMAYOR, J.; HIDALGO, L. Leucogram in heifers and calves (Holstein) infected with a Venezuelan strain of *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v. 35, n. 3, p. 647-652, 2000.

ETCHICHURY, M. **Termorregulação em cavalos submetidos a diferentes métodos de resfriamento pós-exercício.** 2008. p. 14-25. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

EWASCHUK, J.B.; NAYLOR, J.M.; PALMER, R.; WHITING, S.J.; ZELLO, G.A. D-lactate production and excretion in diarrheic calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine,** Lawrence, v. 18, p. 744-747, 2004.

FALL, P.J. A stepwise approach to acid-base disorders. **Postgraduate Medicine**, New York, v. 107, n. 3, p. 249-263, 2000.

FERREIRA, F.; PIRES, M.F.A.; MARTINEZ, M.L.; COELHO, S.G.; CARVALHO, A.U.; FERREIRA, P.M.; FACURY FILHO, E.J.; CAMPOS, W.E. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse térmico calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** Belo Horizonte, v. 58, n. 5, p. 732-738, 2006.

FERREIRA, L.S. **Silagem de colostro:** caracterização do perfil de fermentação anaeróbica e desempenho de bezerros leiteiros. 2011. 142 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

FRANDSON, R.D.; WILKE, W.L.; FAILS, A.D. **Anatomia e fisiologia dos animais da fazenda.** 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 45-67.

FRASER, T.; TILYARD, M. Complete blood count: in primary case. **BPAC Beter Medice,** Dunedin, v. 1, n. 1, p. 5-13, 2008.

FREITAS, M.D. **Avaliação dos parâmetros clínicios e laboratoriais de bezerras com diarreia neonatal naturalmente adquiridas**. 2009. p. 38-71. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

FREITAS, S.G.; PATIÑO, H.O.; MÜHLBACH, P.R.F.; GONZÁLES, F.H.D. Efeito da suplementação de bezerros com blocos multinutricionais sobre a digestibilidade, o consumo e os parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1508-1515, 2003.

GEOR, R.J.; McCUTCHEON, L.J.; ECKER, G.L.; LINDINGER, M.I. Thermal and cardiorespiratory responses of horses to submaximal exercise under hot and humid conditions. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 27, n. S20, p. 125-132, 1995.

HAGA, S.; FUJIMOTO, S.; YONEZAWA, T.; YOSHIOKA, K.; SHINGU, H.; KOBAYASHI, Y.; TAKAHASHI, T.; OTANI, Y.; KATOH, K.; OBARA, Y. Changes in hepatic key enzymes of dairy calves in early weaning production systems. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 91, n. 8, p. 3156-3164, 2008.

HALL, G.A; JONES, P.W.; MORGAN, J.H. Calf diarrhea. In: ANDREWS, H.A.; BOYD, H.; BLOWEY, R.W. **Bovine medicine diseases and husbandry of cattle.** Oxford: Blackwell, 1992. p. 154-180.

HAMILTON, T.S. The effect of added glucose upon the digestibility of protein and of fiber in rations for sheep. **The Journal of Nutrition,** Bethesda, v. 23, n. 2, p. 101-110, 1942.

HAMMOND, A.C. Use of BUN and MUN as guides for protein and energy supplementation in cattle. **Revista Corpoica**, Bogota, v. 2, n. 2, p. 44-48, 1998.

HANSHCHKE, G.; SCHULZ, C. Blutuntersuchungen bei klinisch gesunden kalbern im subtropischen klima (Marokko). **Tierarztlich Umschau**, Konstanz, v. 37, p. 469-481, 1982.

HARRIS, B.J.; STAPLES, C.R. **Selecting By-product Feedstuffs for Feeding Dairy Cattle**. Gainesville: Cooperative Extension Service; IFAS; University of Florida, 1989. p. 1-2.

HEIDRICH, H.D.; GRUNER, J.; VASKE,T. R. Enfermidades metabólicas e carências. In: **Manual de patologia bovina**. São Paulo: J.M. Varela Livros, 1980. p. 191-192.

HILL, T.M.; BATEMAN, H.G.; ALDRICH, J.M. SCHLOTTERBECK, R.L. Effects of feeding different carbohydrate sources and amounts to young calves. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v. 91, p. 3128-3137, 2008.

HOFFMAN, P.C.; FUNK, D.A. Applied dynamics of dairy replacement growth and management. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v. 75, p. 2504-2516, 1992.

HOUPT, T.R. Equilibrio ácido-básico. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O.O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos.** 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 147-160.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística de produção Agrícola**: março de 2012. Rio de Janeiro, 2012. p. 45-58.

JEŽEK, J.; NEMEC, M.; STARIČ, J.; KLINKON, M. Age related chances and reference intervals of haematological variables in dairy calves. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy,** Pulawy, v. 55, p. 471-478, 2011.

KAHN, C.M.; LINE, S. The Leukogram. In: **THE MERCK veterinary manual.** 9th ed. Whitehouse Station: Merck Sharp & Dohme Corp., 2011. Disponível em: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/10705.htm>. Acesso em: 25 fev. 2013.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animal**. 6th ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916 p.

KANETO, F.M.; COELHO, C.S.; LEAL, M.L.R.; LISBOA, J.A.N.; BENESI, F.J. Glicemia e “anion-gap” em bezerras sadias da raça holandesa no primeiro mês de vida. **ARS Veterinária,** Jaboticabal, v. 20, n. 3, p. 291-298, 2004.

KASARI, T.R.; NAYLOR, J.M. Further studies on the clinical features and clinico-pathological findings of a syndrome of metabolic acidosis with minimal dehydration in neonatal calves. **Canadian Journal of Veterinary Research,** Ottawa, v. 50, n. 2, p. 502–508, 1986.

KLINKON, M.; JEŽEK, J. Values of blood variables in calves. In: MARIN-PEREZ, C.C.A. **Bird's-eye view of veterinary medicine**. Intechopen: Rijeka, 2012. p. 301-320.

KNOWLES, T.G.; EDWARDS, J.E.; BAZELEY, K.J.; BROWN, S.N.; BUTTERWORTH, A.; WARRISS, P.D. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. **Veterinary Record,** London, v. 147, n. 21, p. 593-598, 2000.

KOMKRIS, T.; STANLEY, R.W.; MORITA, K. Effect of feeds containing molasses fed separately and together with roughage on digestibility of rations, volatile fatty acids produced in the rumen, milk production, and milk constituents. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 48, n. 6, p. 714-719, 1965.

LARSON, L.L.; OWEN, F.G.; ALBRIGHT, J.L.; APPLEMAN, R.D.; LAMB, R.C.; MULLER, L.D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 60, n. 6, p. 989-991, 1977.

LEAL, M.L.R.; CYRILLO, F.C.; MORI, C.S.; MICHIMA, L.E.S.; NICHI, M.; ORTOLANI, E.L.; BENESI, F.J. Modelo de indução de diarréia osmótica em bezerros holandeses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1650-1657, 2008.

LEIVA, E.; HALL, M.B.; VAN HORN, H.H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 83, p. 2866-2875, 2000.

LESMEISTER, K.E.; HEINRICHS, A.J. Effects of adding extra molasses to a texturized calf starteron rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 411-418, 2005.

LIMA, P.O.; CÂNDIDO, M.J.D.; QUEIROZ, M.G.R.; FERREIRA, J.M.; MODESTO, E.C.; LIMA, R.N.; GOMES, J.M.C.; AQUINO, R.M.S. Parâmetos séricos de bezerros submetidos a diferentes tipos de dietas líquidas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal,** Salvador, v. 13, n. 2, p. 529-540, 2012.

LISBÔA, J.A.N.; BENESI, F.J.; LEAL, M.L.R.; TEIXEIRA, C.M.C. Efeito da idade sobre o equilíbrio ácido-básico de bezerras sadias no primeiro mês de vida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science,** São Paulo, v. 39, n. 3, p. 136-142, 2002.

LOFGREEN, G.P.; OTAGAKI, K.K. The net energy of blackstrap molasses for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 43, p. 220-230, 1960.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. Hematologia. In: **Manual de patologia clínica veterinária.** 3.ed. Santa Maria: UFMS, Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007. p. 5-10.

LORENZ, I. Investigations on the influence of sérum D-lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis. **The Veterinary Journal,** London, v. 168, p. 323-327, 2004.

LORENZ, I.; HARTMANN, I.; GENTILE, A. Determination of D-lactate in calf serum samples – an automated enzymatic assay. **Comparative Clinical Pathology**, Columbia, v. 12, p. 169-171, 2003.

LUCA, G.C.; REIS, B.F. Espectrofotometria de proteínas totais em plasma de sangue bovino por análise em fluxo. **Scientia Agricola,** Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 251-256, 2001.

LUMSDEN, K.; MULLER, K.; ROWE, R. Hematology and biochemistry references values for female Holstein cattle. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ottawa, v. 44, p. 24-31, 1980.

MAACH, L.; GRÜNDER, H.D.; BOUJIJA, A. Klinische und hämatologische untersuchungen bei schwarzbunten an durchfall erkrankten neugeborenen aufzuchtkälbern in Marokko. **Deutsche Tierarztliche Wochenschrift,** Hannover, v. 99, n. 4, p. 133-140, 1992.

MACHADO, P.R.L.; CARVALO, L.; ARAÚJO, M.I.A.S.; CARVALHO, E.M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.

MAGALHÃES, J.A.; TAKIGAWA, R.M.; TAVARES, A.C.; TOWNSEND, C.R.; COSTA, N.L.; PEREIRA, R.G.A. Determinação da tolerância de bovinos e bubalinos ao calor do trópico úmido. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p. 70-72.

MARÇAL, W.S.; BIRGEL, E.H.; D´ANGELINO, J.L.; MIGUEL, O. Avaliação cronológica da variação no volume globular sanguíneo de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 239-243, 1995.

MEBUS, C.A. Reovirus-like calf enteritis. **Digestive Diseases**, New York, v. 21, n. 7, p. 592-598, 1976.

MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhea. **Revue de Médecine Veterinaire**, Toulouse, v. 160, p. 404-409, 2009.

MIRON, J.; YOSEF, E.; BEN-GHEDALIA, D.; CHASE, L.E.; BAUMAN, D.E. SOLOMON, R. Digestibility by dairy cows of monosaccharide constituents in total mixed rations containing citrus pulp. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 85, p. 89-94, 2002.

MITCHELL, H.H.; HAMILTON, T.S.; HAINES, W.T. The utilization by calves of energy in rations containing different percentages of protein and in glucose supplements. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 61, n. 12, p. 847-864, 1940.

MORALES, J.L.; VAN HORN, H.H.; MOORE, J.E. Dietary interaction of cane molasses with source of roughage: intake and lactation effects. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, p. 2331-2338, 1989.

MOSCARDINI, M.C. **Substituição do milho moído fino por polpa cítrica e/ou farelo de glúten de milho em rações para bovinos terminados em confinamento.** 2008. p. 17-21. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MÜLLER, M.; PRADO, I.N. Metabolismo da pectina em animais ruminantes – uma revisão. **Revista Varia Scientia,** Cascavel, v. 4, n. 8, p. 45-56, 2004.

NAGY, O.; SEIDEI, H.; KOVÁC, G.; PAULÍKOVÁ, I. Acid-base balance and blood gases in calves in relation to age and nutrition. **Czech Journal of Animal Science,** Praga, v. 48, n. 2, p. 61-68, 2003.

NAKAGAWA, M.; SUZUKI, K.; TAGUSHI, K. Relationship between depression score and acid-base status in Japonese Black calves with diarrhea. **The Journal of Veterinary Medical Science,** Tokyo, v. 69, n. 5, p. 549-552, 2007.

NAPPERT, G.; NAYLOR, J.M. A comparison of pH determination methods in food animal practice. **Canadian Veterinary Journal,** Ottawa, v. 42, p. 364-367, 2001.

NÁPOLES, G.G.O. **Desempenho e metabolismo de bezerros leiteiros em aleitamento convencional recebendo concentrado inicial contendo glicerol em substituição ao milho**. 2012. 59 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement in dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academy of Science, 2001. 381 p.

NAYLOR, J.M. A retrospective study of the relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. **Canadian Veterinary Journal,** Ottawa, v. 30, p. 577-580, 1989.

OMOLE, O. O.; NAPPERT, G.; NAYLOR, J.M.; ZELLO, G.A. Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, v.131, 2001. 2128–2131 p.

PARÉ, J.; THURMOND, M.C.; GARDNER, I.A.; PICANSO, J.P. Effect of birthweight, total protein, serum IgG and packed cell volume on risk of neonatal diarrhea in calves on two California Dairies. **Canadian Journal of Veterinary Research,** Ottawa, v. 57, p. 241-246, 1993.

PEKCAN, M.; ALTINTAS, A.; KARAGUL, H.; FIDANCI, U.R.; UYSAL, H.; BESALTI, O.; UNUBOL, A.S.; CIFTCI, G.; BILGIHAN, S.; BASAK, H. Serum biochemistry and native protein electrophoresis in diarrheic calves with arthritis. **Acta Veterinaria**, Beograd, v. 62, n. 2/3, p. 261-269, 2012.

PHILPOTT, D.J.; GIRARDIN, E. Gut microbes extended reach to systemic innate immunity. **Nature Medicine**, New York, v. 16, n. 2, p. 160-161, 2010.

PRYCE, J.D. A modification of the Barker-Summeson method for the determination of lactic acid. **Analyst**, London, v. 94, p. 1151-1152, 1969.

QUIGLEY, J.D.; SMITH, Z.P.; HEITMANN, R.N. Changes in plasma volatile fatty acids in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science**, Landcaster, v. 74, p. 258-263, 1991.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary medice:** a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10th ed. Philadelphia: Elsevier, 2007. p. 2156.

RAMIN, A.G.; ASRI-REZAEI, S.; PAYA, K.; EFTEKHARI, Z.; JELODARY, M.; HAMID, A.; RAMIN, S. Evaluation of anemia in calves up to 4 months of age in Holstein dairy herds. **Vetscan**. Berlin, v. 7, n. 1, p. 87-92, 2012.

RAVARY-PLUMIOËN, B. Resuscitation procedures and life support of the newborn calf. **Revue de Médecine Veterinaire**, Toulose, v. 160, n. 8/9, p. 410-419, 2009.

REECE, W.O. Acid-base balance and selected hematologic, electrolyte, and blood chemical variables in calves: milk-fed vs conventionally fed. **American Journal of Veterinary Research.** Chicago, v. 41, n. 1, p. 109-113, 1980.

ROCCO, J.R. Diagnóstico dos distúrbios do metabolismo ácido-base. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva,** Rio de Janeiro, v. 15, n. 4, p. 184-192, 2003.

RODES, A.; CUSACK, R.J. Arterial blood gas analysis and lactate. **Current Opinion in Critical Care,** London, v. 6, p. 227-231, 2000.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 423-424.

SCHALCH, F.J.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; BRISOLA, M.L.Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 30, n. 1, p. 280-285, 2001.

SCHIESSCLER, A.; JASTER, H.J.; GROSSE-SIESTRUP, C.; CARROL, E.J. Normal- werte beim kalb biochemische, ohaematologische und gerinnungs phisiologische werte und bestimmungen de flussigkeitsltompatimente. **Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe A**. Hamburg, v. 24, p. 198-310, 1977.

SEIFI, H.; MOHRI, M.; SHOOREI, E.; FARZANEH, N. Using heamatological and serum biochemical findings as prognostic indicators in calf diarrhea. **Comparative Clinical Pathology,** Columbia, v. 15, n. 3, p. 143-147, 2006.

SILVA, J.T. **Desempenho e desenvolvimento ruminal de bezerros em sistema de desaleitamento precoce recebendo aditivos alternativos aos antibióticos**. 2010. p. 75-77. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010. 51-53 p

SILVA, R.G. **Introdução à bioclimatologia animal.** São Paulo: Nobel, 2000. 286 p.

SIMON, H.B. Hyperthermia – review article. **The New England Journal of Medicine**. Waltham, v.329, n.7, 1993. 483-487 p.

SMITH, D. Management practices minimize risk of scours outbreak. **Angus Journal**, St. Joseph, v. 12, p. 48-50, 2001.

SOLIMAN, M.K.; ZAKI, K. Blood picture of Friesian heifers from birth till maturity. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A**, Berlin, v. 13, p. 467-473, 1966.

SOUZA, C.F.; BRESSAN, W.S.; MOGAMI, C.A.; OBERHAUSER, A.G. Variação da temperatura retal e frequência respiratória de bezerros criados em diferentes tipos de bezerreiros. In: ZOOTEC 2004, 2004, Brasilia. **Anais...** Brasília: Associação Brasileira de Zootecnia, 2004. p. 204-208.

STEINHARDT, M.; THIELSCHER, H.H. Reaktionen von milchrindkälbern auf flüssignahrungaufnahme anverschiedenen alterspunkenten vor und während der aufzucht. **Tierärztliche Umschau,** Konstanz, v. 55, n. 12, p. 663-673, 2000.

STULL, C.L.; MESSAM, L.L.M.; COLLAR, C.A.; PETERSON, N.G.; CASTILLO, A.R.; REED, B.A.; ANDERSEN, K.L.; VERBOORT, W.R. Precipitation and temperature effects on mortality and lactation parameters of dairy cattle in California. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 91, n. 12, p. 4579-4591, 2008.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Fisiologia dos animais domésticos.** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.

TENNANT, B.; HARROLD, D.; REINA-GUERRA, M.; KENDRICK, J.W.; LABEN, R.C. Hematology of the neonatal calf: erythrocyte and leukocyte values of normal calves. **Cornell Veterinarian,** Ithaca, v. 64, p. 516-532, 1974.

THOM, E.C. The discomfort index. **Weatherwise**, Boston, v. 12, n. 2, p. 57-60, 1959.

TOMAS, D. CBE: what the white cell. **IMVS Pathology Newsletter,** Adelaide, v. 67, p. 10-12, 2007.

TOULLEC, R.; GUILLOTEAU, P. Research into the digestive physiology of the milk-fed calf. In: VAN WEERDEN, E.J.; HUISMAN, J. (Ed.). **Nutrition and digestive physiology in monogastric farm animals.** Wageningen: Pudoc, 1989. p. 37.

TOZER, P.R.; HEINRICHS, A.J. What affects the cost of raising replacement dairy heifers: a multiple-component analysis. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 84, p. 1836-1844, 2001.

TREFZ, F.M.; LORCH, A.; FEIST, M.; SAUTER-LOUIS, C.; LORENZ, I. Metabolic acidosis in neonatal calf diarrhea – clinical findings and theoretical assessment of a simple treatment protocol. **Journal of Veterinary Internal Medicine,** Lawrence, v. 26, p. 162-170, 2012.

VERRASTRO, T.; LORENZI, T. F. Hemograma. In: _____. **Hematologia e hemoterapia:** fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Atheneu, 1998. cap. 3, p. 19-23.

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

WILLETT, G.S. **The economics of home-grown versus custom-raised dairy replacement heifers**. Pullman: Washington State University, 1990. p. 09.

WILLIAMS, P.; FALLON, R.J.; INNES, G.M.; GARTHWAITE, P. Effects on food-intake, rumen development and live weight of calves of replacing barley with sugar-beet citrus pulp in a starter diet . **Animal Production**, Purwokerto, v. 44, p. 65-73, 1987.

WILSON, L.L.; EGAN, C.L.; DRAKE, T.R. Blood, growth and other characteristics of special-fed veal calves in private cooperator herds. **Journal of Dairy Sciencie**, Champaign, v. 77, n. 8, p. 2478-2485, 1994.

WING, J. M. **Citrus feedstuffs for dairy cattle**. Gainesville: Agricultural Experiment Stations; IFAS; University of Florida, 1982. 17 p.

ZANG, S.; WOOD, C.; XUE, W.; KRUKENBERG, S.M.; CHEN, Q.; MINOCHA, H.C. Immune suppression in calves with bovine immunodeficiency virus. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology,** Washington, v. 4, n. 2, p. 232, 1997.

4 AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO E ALTERAÇÕES DE METABOLISMO E ESTRESSE EM BEZERROS EM SISTEMA DE DESALEITAMENTO PRECOCE SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICOS

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do fornecimento via oral de probióticos de bactérias ruminais, em relação ao desempenho, alterações metabólicas, parâmetros sanguíneos e morbidade em bezerros leiteiros desaleitados precocemente. Após o nascimento, 20 bezerros mestiços da raça Holandês x Jersey foram distribuídos em blocos casualizados e submetidos a um tratamento controle ou ao fornecimento via oral de 2 gramas de probiótico/dia. Os animais receberam 6 litros de sucedâneo lácteo/dia (≈15,4% do peso corporal ao nascer), divido em duas refeições diárias e foram desaleitados de forma gradual na sexta semana de vida, independentemente do consumo de concentrado inicial, de forma a causar estresse. Os animais foram alojados em abrigos individuais, em terreno plano com gramado, com livre acesso à água e concentrado inicial, até a décima semana de vida. O consumo de concentrado inicial e o escore fecal foram registrados diariamente. Semanalmente foram realizadas pesagens dos animais, medidas de altura da cernelha, largura da garupa e perímetro torácico, até a décima semana de idade dos animais, quando o experimento foi encerrado. Foram realizadas colheitas de amostras de sangue dos animais na semana, 2, 4, 6, 8 e 10, duas horas após o aleitamento da manhã, para determinação de concentrações plasmáticas de glicose, proteína total, albumina, β-hidroxibutirato, cortisol e também para a realização do hemograma. Foi avaliado o índice de conforto térmico dos animais a partir de dados meteorológicos. A suplementação de probiótico não afetou (P>0,05) o consumo de concentrado, o ganho de peso diário, o peso ou as medidas corporais dos animais. Na segunda semana de idade foi registrado perda de peso, em consequência da maior incidência de diarreias. O fornecimento de probiótico também não teve efeito (P>0,05) sobre a incidência de diarreia. Durante todo o período de aleitamento, a avaliação do escore fecal indicou valores médios acima de 2,5, indicando diarreia; no entanto, após o desaleitamento a consistência das fezes tornou-se normalAs análises bioquímicas, assim como o hemograma não foram alterados em resposta ao fornecimento de probiótico (P>0,05). Com o avanço da idade dos animais, a concentração média de glicose plasmática foi reduzida (P<0,05), enquanto a de β-hidroxibutirato foi aumentada, indicando desenvolvimento ruminal, independentemente da suplementação com probiótico. Apesar da concentração de cortisol ter sido significativamente maior (P<0,04) em animais suplementados com probióticos, as mesmas foram baixas, anulando possibilidades de estresse crônico nos animais. Entretanto, no período de desaleitamento, foi observada linfocitose nos animais, provavelmente consequência da liberação de adrenalina relativa ao estresse agudo devido ao desaleitamento. As condições climáticas e os índices de conforto térmico foram considerados aceitáveis para um bom desempenho dos animais, sem apresentar condições extremamentes críticas que causaria estresse aos bezerros. Como conclusão, o fornecimento de probióticos contendo bactérias ruminais não alterou o desempenho e o metabolismo de bezerros em sistema de desaleitamento precoce.

Palavras-chave: Bezerros; Desaleitamento; Microorganismos; Crescimento; Morbidade

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of probiotic containing ruminal bacteria oral supply, in relation to performance, blood parameters and morbidity in early-weaned dairy calves. After birth, 20 crossbred calves (Holstein x Jersey) were distributed in randomized blocks and submitted to a control treatment or probiotic oral supply (2 grams/day). Animals were fed 6 L/d of milk replacer (≈ 15.4% of the body weight at birth), divided into two meals, and were gradually early weaned at 6th week of life, regardless the starter feed intake, in order to cause stress. Animals were housed individually in hutches, with free access to water and starter feed until the tenth week of life. Starter feed intake and fecal score were recorded daily. Weekly, body weight, withers height, heart girth and hip width were measured until the tenth week of age, when the experiment ended. Blood samples were taken at the 2nd, 4th, 6th, 8th and 10th week, two hours after the morning feeding, to determine plasma concentrations of glucose, total protein, albumin, β-hydroxybutyrate, cortisol and also for the complete blood count (CBC). Meteorological data and thermal comfort indexes were also calculated. Probiotic supplementation didn´t affect (P>0.05) starter feed intake, daily weight gain, weight or body measurements. In the second week of age, weight loss was observed as a result of the increased incidence of diarrhea. The probiotic supply also had no effect (P>0.05) on fecal scores or morbidity. Throughout the milk-feeding period, fecal scores were above 2.5, indicating diarrhea; however, after weaning the faeces consistency became normal. Biochemical analysis, as well as CBC were not altered in response to the probiotic supply (P>0.05). With increasing animal age, the average concentration of plasma glucose was reduced (P<0.05), while that of β-hydroxybutyrate was increased, indicating rumen development, regardlessof probiotic supplementation. Although the cortisol concentration was significantly higher (P<0.04) in animals supplemented with probiotic, in both treatments the cortisol concentration were low, rejecting chances of chronic stress in animals. However, around weaning, lymphocytosis was observed, probably due to the release of adrenaline related to the acute stress due to weaning. Climatic conditions and thermal comfort indexes were acceptable to good performance of the animals, without providing critical conditions that would cause stress to the calves. As conclusion, the probiotic supply did not affect the performance or metabolism of dairy calves in early weaning system.

Keywords: Dairy calves; Direct-fed microbial; Health; Performance; Weaning

4.1 Introdução

Uma das importantes fatias do custo de uma propriedade leiteira é a criação de novilhas de reposição, sendo que a mortalidade de bezerras e dispêndios com enfermidades representam uma importante parcela dentro destes custos. É considerada aceitável, uma taxa de mortalidade de bezerras de 5 a 7%, entretanto, a maioria das propriedades apresenta índices significativamente superiores. Estudos que retratam estatísticas nacionais são raros, mas levantamentos realizados nos Estados Unidos mostram que a principal causa de mortalidade de bezerros na fase de aleitamento, alcançando aproximadamente 60%, são os distúrbios gastrointestinais, como a diarreia (USDA, 2007).

A diarreia é a principal moléstia que acomete bezerros nas primeiras semanas de vida, sendo responsável por baixos índices de desempenho animal, perda por mortalidade e despesas com tratamentos, elevando o custo de produção de novilhas de reposição. Devido a esses fatores, os sistemas de produção leiteira vêm cada vez mais, aumentando a inclusão de aditivos que tenham efeito no controle de diarreias, como os ionóforos ou outros antibióticos, na dieta líquida ou sólida de bezerros em aleitamento.

Devido as vantagens do uso de antibióticos sobre o desempenho dos animais, seu uso como método profilático começou a ser feito de maneira inadequada, ou seja, fornecimento desnecessário e dosagens acima do recomendado, acarretando consequências negativas (HEINRICHS; JONES; HEINRICHS, 2003). Com isso, a União Europeia vem restringindo o uso de antibióticos, o que tem resultado na busca de aditivos alternativos, com efeitos econômicos e biológicos favoráveis ao desempenho em animais de reposição. O uso de antibióticos na produção animal é um assunto de opiniões ambíguas, uma vez que sucedâneos lácteos contendo esse tipo de medicamento não são efetivos para o controle de protozoários ou diarreias de etiologia viral (OLSON et al., 1998); além disso, resistência a antibióticos é uma preocupação emergindo na saúde pública.

Levando em consideração todos esses fatores, o uso de probióticos tem sido avaliado como uma alternativa ao uso de antibióticos na alimentação de bezerros no que diz respeito a profilaxia de diarreias. Probióticos, de modo geral, são definidos como suplemento alimentar com microrganismos vivos com efeitos benéficos para o hospedeiro, devido à sua capacidade de melhorar o balanço microbiano intestinal (FULLER et al., 1989 apud DONOVAN et al., 2002). São culturas viáveis, administradas oralmente aos animais, consistindo basicamente de bactérias produtoras de ácido lático, do gênero bacillus ou enterococcus. As cepas mais

utilizadas como probióticos com bons resultados são os *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococus faecium* (TOURNUT; ANADON; RAYNALD, 1988).

A inclusão de probiótico na dieta de bezerros em aleitamento tem demonstrado melhoras no desempenho, crescimento e diminuição de incidência de doenças (ABE; ISHIBASHI; SHIMAMURA, 1995). Os probióticos podem agir como biorreguladores microbianos, mantendo o equilíbrio da microflora intestinal, e impedindo a multiplicação de bactérias patogênicas, como a *Escherichia coli* enterotoxigênica (ÁVILA; FAIRBROTHER; LALLIER, 1987).

Assim, probióticos constituídos de bactérias ruminais lácticas (*Ruminobacter anylophilum, Ruminobacter succinogenes, Sucinovibrio dextrinosolvens, Bacillus cereus, Lactobacillus acidophilus e Streptococcus faecium*), podem ser excelentes alternativas aos antibióticos. Essas bactérias são isoladas do rúmen e do trato intestinal de bovinos adultos, liofilizadas e mantidas vivas.

O fornecimento via oral de probiótico contendo bactérias ruminais (PBR) foi estudado por Ávila et al. (2000) com o objetivo de avaliar os benefícios do probiótico sobre a incidência de diarreia em bezerros na fase de aleitamento. O fornecimento de PBR durante a fase de aleitamento reduziu a incidência de diarreia em até 30% quando comparado ao grupo controle. Os autores também observaram maior ganho de peso, principalmente nos bezerros que receberam o tratamento durante 15 e 30 dias após o nascimento.

Outros trabalhos foram realizados utilizando bactérias ruminais e intestinais liofilizadas. Abe, Ishibashi e Shimamura (1995) estudaram o fornecimento de *Bifidobacterium pseudolongum* e *Lactobacillus acidophilus* em bezerros recém-nascidos com o objetivo de avaliar os probióticos como provável promotor de crescimento. O probiótico foi fornecido sempre pela manhã, via sucedâneo, em doses de 3×10^9 UFC do 7º dia de vida até o 56º. Neste trabalho os autores encontraram maior ganho de peso para os animais que receberam probiótico em relação aos animais que não receberam nenhum probiótico, e também observaram menor incidência de diarreia para os grupos recebendo probiótico. O fornecimento de *Lactobacillus* teve efeito positivo no peso corporal no período de desaleitamento, eficiência alimentar e saúde geral dos bezerros.

Bezerros são vulneráveis e propensos a afecções durante as primeiras semanas de vida, principalmente afecções referentes ao trato gastrointestinal e respiratório. Assim, o uso de probióticos pode ser efetivo em períodos e situações que tornam os animais mais susceptíveis a doenças, geralmente em momentos de estresse associado com presença de microrganismos nocivos (CRUYWAGEN; JORDAN; VENTER, 1996).

Para animais que são submetidos ao desaleitamento precoce, é importante que o consumo de alimentos sólidos seja adequado, pois é um fator primordial para um desenvolvimento adequado do rúmen, com aumento progressivo de produção de ácidos graxos de cadeia curta, como os ácidos butírico e propiônico, com isso o ganho de peso após o desaleitamento não é prejudicado. Entretanto, esse consumo adequado de alimentos sólidos pode ser reduzido devido ao estresse, devido a isso, o desaleitamento precoce deve ser realizado de maneira que, o animal sofra o menor estresse possível (PAULA, 2012).

O fornecimento de bactérias probióticas que auxiliam na redução da suscetibilidade de bezerros ao estresse, devido a seu efeito biorregulador da microflora gastrointestinal e, portanto a manutenção do consumo de concentrado por bezerros leiteiros parece uma boa ferramenta de manejo destes animais.

O objetivo deste projeto é avaliar em bezerros leiteiros o fornecimento de probiótico composto por bactérias ruminais (PBR), sendo avaliados dados relacionados ao estresse, alterações de metabolismo, desempenho dos animais em sistema de desaleitamento precoce, incidência de afecções e influência no sistema.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Instalações, animais e manejo alimentar

O experimento foi conduzido no período de dezembro de 2011 a maio de 2012, no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ-USP, situado na cidade de Piracicaba, estado de São Paulo, Brasil. A área utilizada era composta de gramado e de terreno plano.

Dados meteorológicos foram colhidos do Posto Meteorológico da ESALQ-USP, que utiliza uma estação automática acoplada a um datalogger – CR10X, que armazena os dados de 15 em 15 minutos. Foram colhidos dados diários de temperaturas máxima, mínima e média, umidade relativa do ar máxima, mínima e média, velocidade média do vento e índice pluviométrico diário, durante todo o período experimental. Para avaliar se os animais passaram por estresse térmico devido ao ambiente, foram calculados os Índices de Temperatura e Umidade (ITU) definido por Thom (1959) e o Índice de Temperatura Equivalente (ITE) desenvolvido por Baeta et al. (1987).

Foram utilizados 20 bezerros mestiços da raça Holandês x Jersey, em delineamento experimental inteiramente casualizados. Após a chegada ao bezerreiro experimental, os

animais foram divididos em blocos, de acordo com o peso ao nascer e sexo, e distribuídos nos seguintes tratamentos:

1) Controle;
2) Fornecimento oral de 2 gramas de probiótico/dia.

O probiótico fornecido era constituído de bactérias ruminais probióticas (Tabela 4.1), sendo um pó branco, o qual foi pesado e fornecido individualmente diretamente na cavidade bucal dos bezerros.

Tabela 4.1 - Composição de bactérias no probiótico utilizado no experimento

Bactérias	**Níveis de garantia/Kg do produto**
Bacillus cereus (CBMAI 988)	$7{,}0 \times 10^{11}$ UFC/kg
Enterococcus faecium (CBMAI 924)	$7{,}0 \times 10^{11}$ UFC/kg
Lactobacillus acidophilus (CBMAI 987)	$7{,}0 \times 10^{11}$ UFC/kg
Ruminobacter amylophilum (CBMAI 927)	$6{,}0 \times 10^{11}$ UFC/kg
Ruminobacter succinogenes (CBMAI 928)	$6{,}0 \times 10^{11}$ UFC/kg
Succinovibrio dextrinosolvens (CBMAI 929)	$8{,}8 \times 10^{11}$ UFC/kg

Composição do probiótico DBR do laboratório IMEVE® utilizado no experimento

Após o nascimento, os bezerros foram separados das mães e alocados em abrigos individuais (Figura 3.3), com acesso *ad libitum* à água e receberam 2 litros de colostro logo após o nascimento, e a cada 12 horas, até o segundo dia de vida. Decorrido o período de fornecimento de colostro, os animais passaram a receber 6 litros de sucedâneo lácteo (Sprayfo Violeta (20PB:16EE) Sloten do Brasil Ltda., Santos, SP, Brasil), divididos em duas refeições diárias (08 e 18h), com a composição química-bromatológica apresentada na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Composição química-bromatológica do sucedâneo lácteo[1]

	Valores
Matéria seca, %	97,4
Matéria mineral, % MS	8,2
Proteína bruta, % MS	20,2
Extrato etéreo, % MS	15,6
FDN, % MS	0,5
FDA, % MS	0,0
Carboidratos não fribrosos, %MS	55,5

[1]Composição do Sprayfo Violeta, Sloten do Brasil Ltda., Santos, SP, Brasil (12,5% de sólidos)

O desaleitamento foi realizado na sexta-semana de idade de forma gradual, de forma a ser criada uma situação de estresse nos animais. Além do desafio no desaleitamento, os animais também passaram por desafios patológicos, sendo alocados em áreas contaminadas de fezes diarreicas.

Os animais receberam também concentrado inicial, formulado de acordo com as recomendações do NRC (2001) com a formulação e composição química-bromatológica apresentados na Tabela 4.3. O concentrado farelado foi fornecido toda manhã, *ad libitum*, pesando-se a sobra do dia anterior, de forma a se obter o consumo diário. A quantidade máxima oferecida por animal foi de até 2 kg/dia. A partir do desaleitamento, durante 4 semanas, foi fornecido feno de capim coast-cross *ad libitum*, além do concentrado inicial.

Tabela 4.3 - Ingredientes e composição química-bromatológica do concentrado inicial utilizado na alimentação dos animais

Ingredientes	**Composição (%)**
Milho moído	64,0
Farelo de soja	26,0
Casca de soja	6,0
Calcário calcítico	3,0
Premix mineral/vitamínico[1]	1
Composição química-bromatológica	
Matéria seca, % matéria natural[2]	89,95
Matéria mineral, % MS[2]	5,88
Proteína bruta, % MS[2]	20,6
Extrato etéreo, % MS[2]	3,4
FDN, % MS[2]	13,13
FDA, % MS[2]	6,92
Energia metabolizável, Mcal/kg[3]	2,94

[1] Composição do Premix mineral/vitamínico: Ca 16,8%; P 4,2%; S 2,3%; Na 11,6%; Cl 8,0%; Mg 2,4; Co 38,2 ppm; Cu 343 ppm; I 30,2 ppm; Fe 578,2 ppm; Mn 1146,4 ppm; Se 15,5 ppm; Zn 1176,2 ppm; Vit. A 68.760 UI/kg; Vit. E 764 UI/kg; Vit. D 57.300 UI/kg.
[2] Valores obtidos com base nos resultados das análises bromatológicas dos ingredientes.
[3] Valor estimado pelo NRC (2001).

4.3 Avaliação do desempenho e desenvolvimento corporal

Os animais foram pesados ao nascer e semanalmente, sempre antes do fornecimento do leite da manhã, em balança mecânica (ICS-300, Coimma Ltda., Dracena, SP, Brasil), até a décima semana de vida, quando se encerrou o período experimental. Foram também mensuradas semanalmente, a altura na cernelha e largura da garupa, utilizando-se régua com escala em centímetros; e perímetro torácico com fita, também com escala em centímetros.

4.4 Avaliação das fezes e sanidade

Foram realizadas diariamente no período de manhã, as avaliações do escore fecal de todos os animais conforme Larson et al. (1977), sendo classificadas conforme a fluidez: (1) quando normais e firmes; (2) quando com consistência pastosa porém com aspecto geral saudável; (3) quando com consistência aquosa considerada diarreia; (4) quando com consistência fluída.

Diariamente, foram realizadas observações dos animais para diagnóstico de problemas de saúde, sendo registradas todas as ocorrências. Em caso de necessidade, os animais foram medicados conforme recomendação do médico veterinário, sendo anotados todos os tratamentos realizados.

4.5 Coleta de sangue e metodologia

Amostras de sangue foram colhidas na 2ª, 4ª, 6ª, 8ª e 10ª semanas de vida dos animais, sempre duas horas após o fornecimento da dieta líquida no período da manhã, através de punção da veia jugular; utilizando-se tubos vacuolizados contendo fluoreto de sódio como antiglicolítico e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como anticoagulante.

Parte destas amostras foram utilizadas para determinação de hematócrito, eritrócitos totais, volume globular médio (VGM), leucócitos totais e leucócitos diferenciais.

O restante das amostras foi submetido à centrifugação a 2000 x *g*, durante 20 minutos, à temperatura de 4º C. O plasma foi separado por pipetagem e armazenado em microtubos e mantidos em freezer para posterior determinação de glicose, proteína total, albumina, β-hidroxibutirato e cortisol.

4.6 Análises bioquímicas plasmáticas

4.6.1 Determinação de glicose no plasma

As concentrações de glicose foram determinadas utilizando-se o kit enzimático GLICOSE HK LIQUIFORM – Ref.:85 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 505 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Uma alíquota de 4 µL da amostra foi pipetada em cubetas de reação, acrescida de 400 µL de reagente, fornecido pelo kit. Após período de incubação de 10 minutos, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de glicose plasmático em mg/dL. Para calibração do equipamento, solução padrão fornecida com kit enzimático com concentração de 100 mg/dL de glicose foi analisada a cada rodada.

4.6.2 Determinação de proteínas totais no plasma

As concentrações de proteínas totais foram determinas a partir do kit enzimático PROTEÍNAS TOTAIS – Ref: 99-250 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 540 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). O método utiliza 1000 µL de reagente de biureto pipetado em 200 µL de amostra ou solução padrão (4g/dL) incubados a 37ºC por 10 minutos. Após o período de incubação, as reações das amostras com o reagente formaram um composto de cor púrpura, cuja absorbância foi proporcional à concentração de proteínas da amostra.

4.6.3 Determinação de albumina no plasma

As concentrações de albumina foram determinas a partir do kit enzimático ALBUMINA – Ref: 19 (LABTEST Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil) por espectrofotometria de ponto final, utilizando-se filtro de absorbância de 620 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). O método utiliza reagente de cor pipetado na amostra (relação amostra/reagente: 1:101) ou solução padrão (3,8g/dL), após o período de incubação, foi realizada a leitura da absorbância para obtenção dos valores de albumina plasmática em g/dL.

4.6.4 Determinação de β-hidroxibutirato no plasma

A determinação de β-hidroxibutirato foi realizada utilizando-se kit enzimático RANBUT – Ref.: RB1007 (RANDOX Laboratories – Life Sciences Ltd., Crumlin, UK), utilizando-se filtro de absorbância de 340 nm em Sistema Automático para Bioquímica – Modelo SBA-200 (CELM, Barueri, SP, Brasil). Foi utilizado para calibração do equipamento solução padrão fornecida com o kit, com concentração de 1,000 mmol/L. Uma alíquota de 12,5 μL de amostra foi pipetada na cubeta de reação, acrescida de 500 μL de reagente enzimático, seguida por leitura no aparelho após 1 minuto para obtenção da absorbância inicial. Após incubação por mais 2 minutos, foi realizada uma nova leitura de amostra. A diferença entre as leituras inicial e final foi utilizada para construção da curva de regressão e obtenção dos resultados.

4.6.5 Determinação de cortisol

Para indicar o nível de estresse do animal no período de desaleitamento, foram colhidas amostras de sangue nesse período para determinação de cortisol. A determinação da concentração de cortisol foi realizada através de kit comercial (Assay Designs, EUA). O kit comercial se baseia em um imunoensaio competitivo para a determinação quantitativa de cortisol em fluidos biológicos. O kit utiliza um anticorpo monoclonal de Cortisol para se ligar, de forma competitiva, ao cortisol em uma amostra ou uma molécula de fosfatase alcalina que tem cortisol covalentemente ligado a ele. Após incubação simultânea à temperatura ambiente, o excesso de reagentes é lavado e um substrato é adicionado. Depois de um tempo curto de incubação, a reação enzimática é interrompida e a cor amarela gerada é lida por um leitor de microplacas a 405 nm.

4.7 Hemograma

4.7.1 Determinação de hematócrito

Amostras de sangue venoso coletadas com tubos vacuolizados contendo anticoagulante EDTA foram utilizadas para preencher em torno de ¾ dos tubos capilares sem heparina, e em seguida uma das extremidades foi vedada.

Os tubos capilares foram centrifugados em centrífuga de microhematócrito - Modelo SPIN 1000 (MICROSPIN), a 12.000 x *g*, durante 10 minutos. Após centrifugação foram feitas leituras dos tubos capilares em régua própria para hematócrito, sendo o resultado expresso em porcentagem (%).

4.7.2 Determinação de contagem total de eritrócitos

Foram diluídos 20 µL da amostra de sangue em 4 mL no Líquido de Hayem (proporção de 1:200), sendo a mistura homogeneizada cuidadosamente. Uma pequena quantidade dessa amostra diluída foi pipetada na abertura lateral da câmara de Neubauer espelhada, fazendo o líquido penetrar por capilaridade entre a câmara e a lamínula. A câmara de Neubauer foi mantida num ambiente úmido durante 5 minutos, para permitir a perfeita sedimentação dos eritrócitos no fundo da câmara.

Através de um microscópio, foram feitas as contagens em cinco quadrantes menores localizados no centro da área marcada da câmara de Neubauer, sendo determinada a quantidade de hemácias/µL pela seguinte equação:

$$\textbf{Hemácias/µL} = \textbf{$\sum$q . 5 . 10. 200}$$

Onde:

$\sum$q = soma da contagem de eritrócitos de 5 quadrantes da câmara de Neubauer.

4.7.3 Determinação de VGM

O volume globular médio (VGM) é a média dos volumes das hemácias, considerando a % de hematócrito e a contagem total de eritrócitos. Foi calculado pela seguinte equação, sendo o resultado dado em μm^3:

$$\textbf{VGM = hct . [10/(cte/1000000)]}$$

Onde:

hct = hematócrito (%)

cte = contagem total de eritrócitos/µL

4.7.4 Contagem total de leucócitos

Foram diluídos 20 µL da amostra de sangue em 0,4 mL no Líquido de Turk (proporção de 1:20), sendo a mistura homogeneizadas cuidadosamente. Uma pequena quantidade dessa amostra diluída foi pipetada na abertura lateral da câmara de Neubauer espelhada, fazendo o líquido penetrar por capilaridade entre a câmara e a lamínula. A câmara de Neubauer foi mantida num ambiente úmido durante 5 minutos, para permitir a perfeita sedimentação dos leucócitos no fundo da câmara. Utilizando um microscópio, foram feitas as contagens nos quatro quadrantes localizados nas extremidades da área marcada da câmara de Neubauer, sendo determinada a quantidade leucócitos/µL pela seguinte equação:

$$(\sum q / 4) \cdot 10 \cdot 20 = \text{leucócitos}/\mu L$$

Onde:

$\sum q$ = soma da contagem de leucócitos dos 4 quadrantes da extremidade da câmara de Neubauer.

4.7.5 Contagem diferencial de leucócitos

Foram confeccionados esfregaços sanguíneos utilizando-se uma gota de sangue sobre uma lâmina, onde o esfregaço foi feito com o auxílio da borda de outra lâmina arranjada em ângulo de 45º. O esfregaço sanguíneo foi corado com corante de Wright.

Para contagem diferencial dos leucócitos através dos esfregaços, foi utilizado um microscópio com a lente objetiva de imersão, contando-se 100 leucócitos percorrendo-se as bordas laterais das lâminas em trajeto de “zig-zag”. Os leucócitos foram diferenciados através da morfologia das células, sendo a contagem realizada com auxílio de um contador diferencial de Células – Modelo CP 2100 (PHOENIX), A contagem diferencial de leucócitos foi calculada em valores absolutos (tipo de leucócito/µL de sangue) e valores relativos (tipo de leucócito em % relativo a contagem total de leucócitos/µL).

4.8 Análise estatística

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, de acordo com o peso ao nascer e sexo do animal. Os dados de desempenho e parâmetros sanguíneos foram analisados como medidas repetidas no tempo com auxílio do procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (versão 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC), conforme o modelo:

$$(1) \qquad Y_{ijk} = \mu + T_i + I_j + TI_{ij} + B_k + E_{ijk}$$

Onde,

Y_{ijk} = variável resposta;

μ = média geral;

T_i = efeito do tratamento (com ou sem suplementação com probiótico);

I_j = efeito de idade dos animais (semana);

TI_{ij} = efeito de interação entre tratamento e idade dos animais;

B_k = efeito do bloco;

E_{ijk} = efeito devido ao acaso (resíduo).

Para efeito de comparação de médias foi utilizado o teste *t* de Student, sendo as médias estimadas através do método dos quadrados mínimos, com nível de significância de 5%.

4.9 Resultados e discussão

4.9.1 Dados meteorológicos e índices de conforto térmico

O experimento foi realizado durante o período de dezembro de 2011 a maio de 2012. Conforme é possível observar na Figura 3.2, a média de temperatura do ar foi ideal para os animais durante todo o período, pois conforme Silva (2000), é considerado temperatura clítica superior (TCS) acima de 25º C e temperatura crítica inferior (TCI) abaixo de 13º C.

Em relação ao Índice de Temperatura e Umidade (ITU) (Figura 3.5), os meses considerados ideais foram janeiro e maio de 2012, os outros meses obtiveram média de ITU um pouco acima de 72, considerado estresse térmico de nível médio para os animais, conforme Armstrong (1994).

Considerando o Índice de Temperatura Equivalente (ITE) (Figura 3.6), os meses ideais que apresentaram ITE entre 18-27º C, foram janeiro, abril e maio de 2012. Os outros meses apresentaram média mensal um pouco acima do ideal, porém, não significando estresse alto aos bezerros.

Considerando os valores obtidos de TCS, TCI, ITE e ITU, pode-se concluir que os animais não sofreram estresse crítico que pudesse prejudicar de maneira séria o desempenho e saúde dos mesmos.

4.9.2 Consumo de concentrado e desempenho

O fornecimento de probiótico não afetou o consumo de concentrado, o peso corporal e nem o ganho de peso diário ($P>0,05$) (Tabela 4.4). No entanto, houve efeito significativo da idade dos animais ($P<0,0001$), podendo-se observar um aumento ameno e progressivo no consumo de concentrado inicial durante o período de aleitamento, sendo este aumento mais intenso após o desaleitamento (Figura 4.1).

Tabela 4.4 - Consumo de concentrado (g/dia), peso corporal (kg) e ganho de peso diário (g/dia) de bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

	Tratamento		EPM[1]	P<[2]		
	Controle	Probiótico		T	I	TxI
Consumo de concentrado, g/dia						
Ao desaleitamento[3]	341	418	71,18	0,45	---	---
Média do período total	768	753	40,12	0,80	<,0001	0,28
Peso corporal, kg						
Inicial[3]	38,6	39,2	1,98	0,81	---	---
Ao desaleitamento[3]	44,21	44,17	1,98	0,99	---	---
Média do período total	45,7	45,8	1,83	0,97	<,0001	0,95
Ganho de peso diário, g/dia						
Ao desaleitamento[3]	255	223	76,91	0,77	---	---
Média do período total	324	327	29,91	0,94	<,0001	0,91

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito de tratamentos; I = efeito de idade dos animais; TxI = interação entre tratamento e idade
[3] Inicial = valores médios à primeira semana, Ao desaleitamento = valores médios à sexta semana

Os animais foram desaleitados de forma precoce com 6 semanas de idade, buscando-se desafiar os animais de forma a verificar o efeito da suplementação com probiótico. Esse tipo de desaleitamento possui vantagens, principalmente devido a diminuição de custos como na alimentação e da mão de obra, além de diminuir casos de distúrbios gastrointestinais (CUNHA et al, 2003), no entanto não resulta em bezerros com peso adequado ao desaleitamento. De acordo com Hopkins (1997) vários critérios podem ser utilizados para decidir o momento do desaleitamento, entre eles o tamanho, a idade, o consumo e o peso do animal. Estudos realizados por Martin et al. (1959), demonstraram que bezerros com 3 semanas de idade já são aptos ao desaleitamento, pois possuem a capacidade de absorver AGCC. Um estudo realizado com bezerros desaleitados com 3, 5 e 7 semanas não apresentou diferença significativa nos desempenhos e consumo quando os animais já estavam com 9-14 semanas de idade (WINTER, 1985). Já o USDA (2007) recomenda que o desaleitamento seja feito com 8,2 semanas de idade, quando o animal estiver consumindo concentrado na quantidade média de 2% do peso corporal do animal ao nascer durante três dias consecutivos.

Como critério no consumo de concentrado, foi verificado que o consumo na quantidade de 1% relativo ao peso ao nascer do bezerro é suficiente para o desaleitamento sem causar efeitos negativos (GREENWOOD; MORRILL; TITGEMEYER, 1997). No entanto, para haver maior segurança quanto ao consumo adequado para estimular o

desenvolvimento do rúmen e consequentemente o desempenho, valores equivalentes a 1,5% do peso ao nascer sejam mais recomendáveis.

No presente trabalho, o desaleitamento dos animais recebendo probiótico ocorreu quando eles consumiam concentrado inicial na quantidade de 1,06% relativo ao peso corporal inicial, enquanto os animais não suplementados estavam consumindo 0,88%. Entretanto, esse fato não afetou os parâmetros de desempenho animal entre os tratamentos (Tabela 4.4).

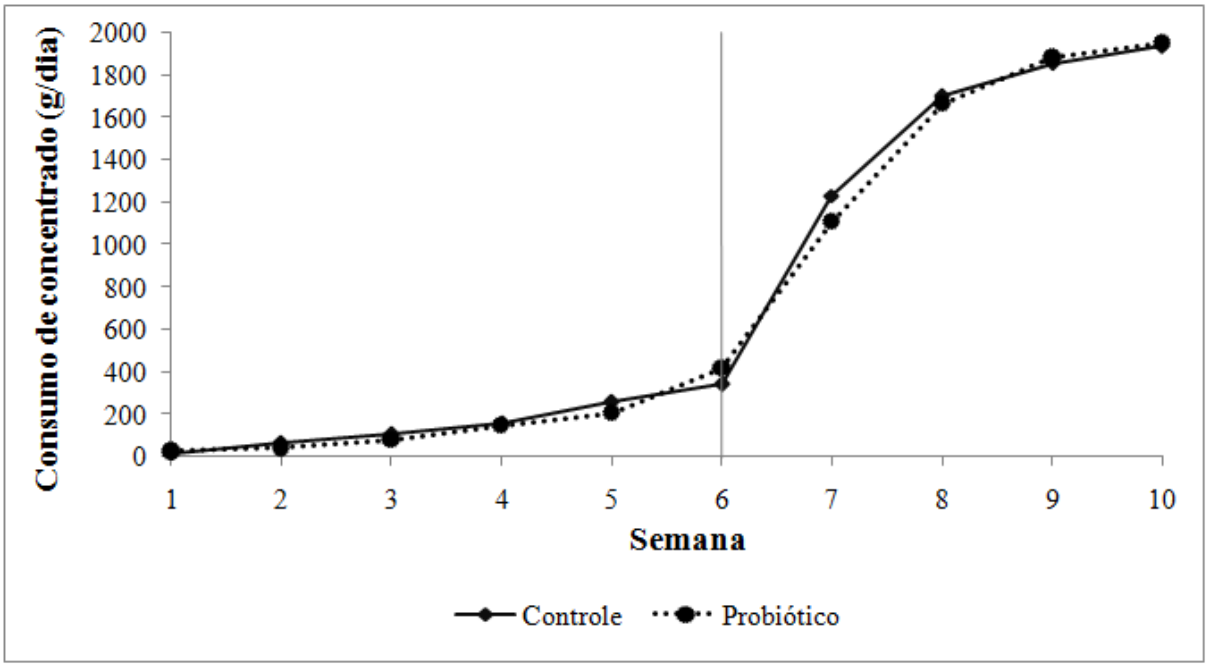

Figura 4.1 - Consumo de concentrado (g/dia), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Em geral, o objetivo de fornecer probióticos de bactérias ruminais para bezerros é estabelecer e manter o mais estável possível os microrganismos intestinais o que consequentemente resulta num melhor desempenho, principalmente quando esses animais jovens passam por algum estresse, que pode causar alterações na população microbial do trato gastrointestinal (KREHBIEL et al., 2003; SAVAGE, 1977). Entretanto, o fornecimento de probiótico não teve efeito significativo (P>0,05) em relação ao consumo durante o período de aleitamento e também no período de desaleitamento, quando os animais são submetidos a grande estresse.

O consumo de concentrado em quantidades relativamente pequenas no período de aleitamento (1-6 semanas), conforme mostra a Figura 4.1, provavelmente é devido a maior quantidade de MS e energia metabolizável através do sucedâneo fornecido aos animais e também pela quantidade acima do que habitualmente é recomendado (10% peso vivo ao nascer). Em diversos estudos foi demonstrado que quanto maior é o volume de dieta liquida

fornecida, menor é o consumo de dieta sólida (JASPER; WEARY, 2002; RINCKER et al. 2011; DE PAULA, 2012).

O peso corporal e o ganho de peso diário médio não foram afetados pelo fornecimento de probiótico durante o período experimental (P>0,05) (Tabela 4.4). Embora tenha havido efeito significativo de idade nestes parâmetros (P<0,0001), não houve efeito significativo da interação tratamento x idade (P>0,05).

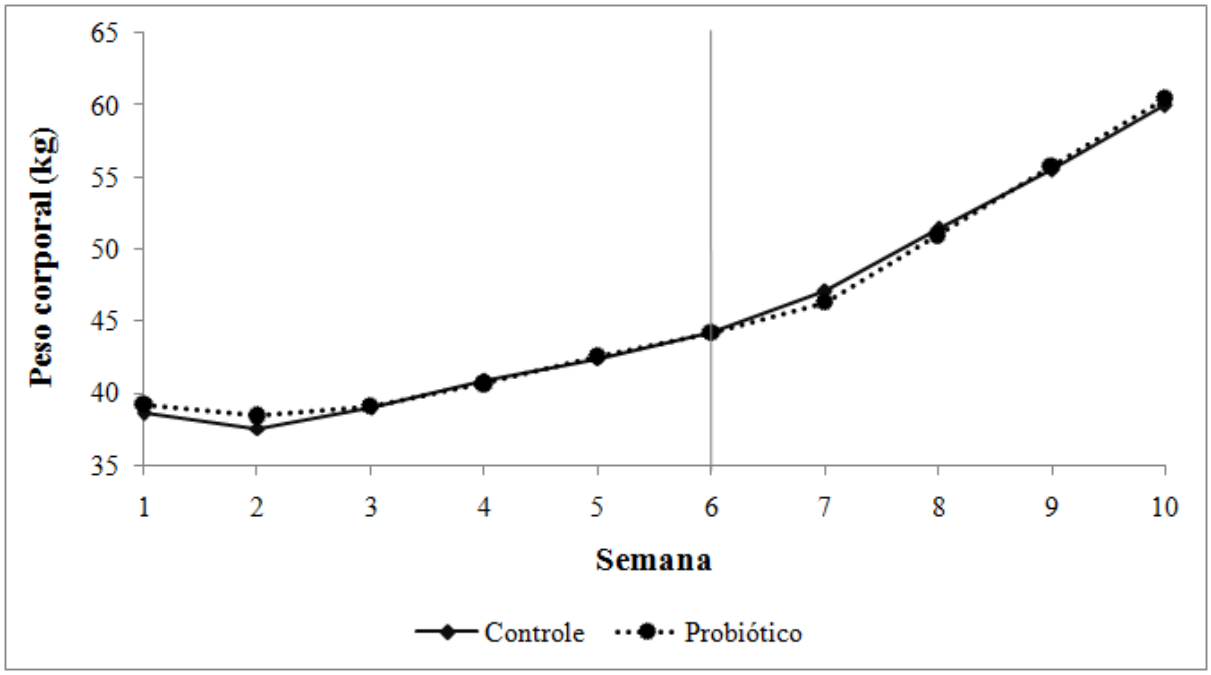

Figura 4.2 - Peso corporal (kg), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

O peso corporal dos animais teve um aumento crescente durante o período do experimento (Figura 4.2), com uma pequena queda na segunda semana, fato relativamente comum, uma vez que nessa idade a ocorrência de distúrbios gastrointestinais como a diarreia é bastante frequente, provocando perda de peso nos bezerros. Após a interrupção do fornecimento de sucedâneo lácteo, a taxa de crescimento foi maior, acelerando o aumento do peso corporal dos animais.

O ganho de peso diário (GPD) dos animais teve uma variação (Figura 4.3), com ganhos diários negativos na segunda semana, devido à maior freqüência de diarreias. Ao desaleitamento houve uma pequena queda no GPD nos animais recebendo probiótico, mas nada que afetasse de modo significativo a média de peso corporal dos animais. Este fato está relacionado ao baixo consumo de concentrado no período de desaleitamento com 6 semanas de vida, o que provavelmente não foi suficiente para preparar o rúmen destes animais para

dieta exclusivamente sólida. Após o desaleitamento, o ganho de peso foi crescente para ambos os tratamentos, principalmente a partir da sétima semana quando houve um aumento abrupto no GPD dos animais, reflexo de adaptação ao desaleitamento e do aumento do consumo de concentrado inicial.

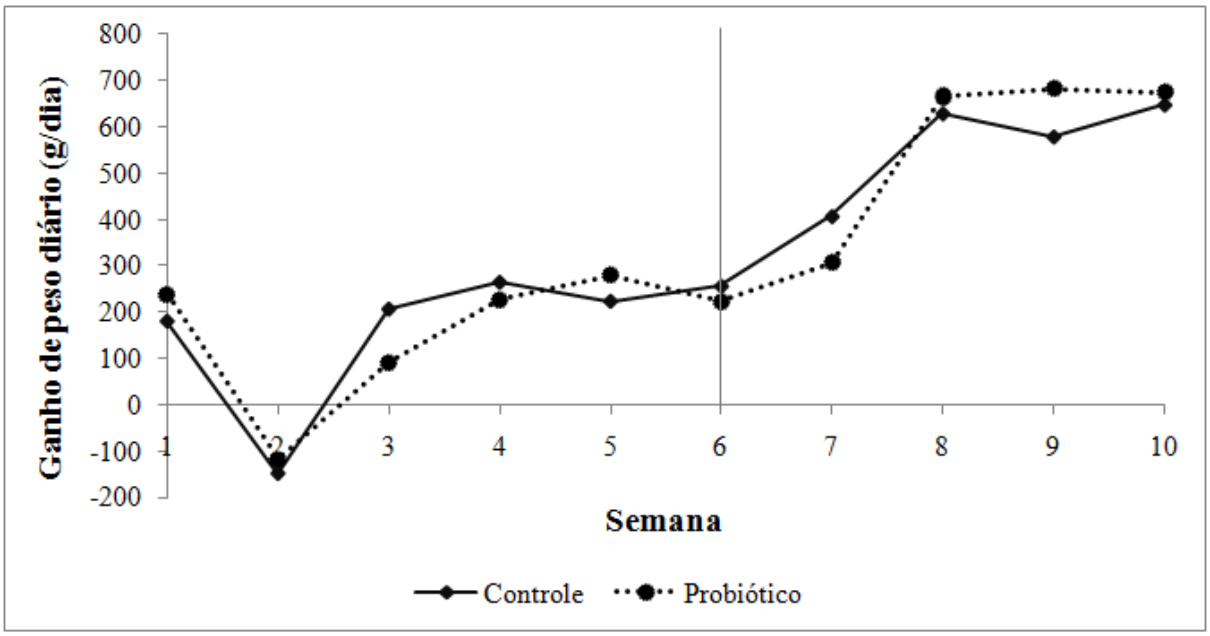

Figura 4.3 - Ganho de peso diário (g/dia), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Os resultados obtidos em alguns estudos demonstram que o fornecimento de probiótico evita a perda de peso em animais durante as duas primeiras semanas de vida, período mais crítico aos bezerros, sendo que esse fator ajuda os animais a se recuperarem de forma mais rápida de distúrbios como a diarreia (CRUYWAGEN, JORDAAN, VENTER, 1996; MEYER et al., 2001; TIMMERMAN et al., 2005).

Avaliar o crescimento de animais jovens através de peso e ganho de peso é extremamente importante para avaliar o manejo geral e manejo alimentar, porém não é suficiente. Normalmente, quando há perda de peso corporal do animal, não deve ser considerada somente perda de tecido adiposo, principalmente em período onde o animal apresenta quadros de diarreia, uma vez que a perda de peso também inclui diminuição de água no organismo devido à desidratação, o que não representa o desempenho animal em si (LUCCI, 1989). Por isso, avaliar o crescimento corporal do animal, com medidas do perímetro torácico, largura da garupa e altura da cernelha é importante para discutir sobre o desempenho geral obtido em termos de crescimento. As medidas corporais obtidas neste estudo estão apresentada na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Perímetro torácico, altura na cernelha e largura da garupa de bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

	Tratamento		EPM[1]	P<[2]		
	Controle	**Probiótico**		**T**	**I**	**TxI**
Perímetro torácico (cm)						
Inicial[3]	77,2	77,7	0,94	0,71	---	---
Ao desaleitamento[3]	80,9	82,0	0,94	0,42	---	---
Média do período total	81,56	82,15	0,79	0,61	<,0001	0,96
Ganho, cm/semana	1,36	1,32	0,09	0,79	<,0001	0,88
Altura na cernelha (cm)						
Inicial[3]	75,35	75,51	0,97	0,88	---	---
Ao desaleitamento[3]	78,95	79,6	0,97	0,56	---	---
Média do período total	78,92	78,97	0,91	0,96	<,0001	0,45
Ganho, cm/semana	0,90	0,77	0,08	0,26	0,18	0,28
Largura da garupa (cm)						
Inicial[3]	20,05	20,48	0,34	0,31	---	---
Ao desaleitamento[3]	22,01	21,71	0,34	0,47	---	---
Média do período total	21,78	21,61	0,30	0,62	<,0001	0,30
Ganho, cm/semana	0,42	0,31	0,04	0,07	0,05	0,65

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito entre os tratamentos; I = efeito da idade dos animais; TxI = efeito entre tratamento e idade
[3] Inicial = valores médios à primeira semana, Ao desaleitamento = valores médios à sexta semana

Como é possível observar na Tabela 4.5, não houve efeito da suplementação com probiótico (P>0,05) nas medidas de crescimento corporal avaliadas. Como esperado, houve efeito da idade (P<0,0001) para as medidas de perímetro torácico, altura na cernelha e largura da garupa, uma vez que os animais estavam em crescimento. Resultados semelhantes foram encontrados em estudos realizados por Jenny, Vandijk e Collins (1991); Higginbotham; Bath (1993) e Duarte et al. (2006).

Os resultados observados na Figura 4.4, demonstram que tanto os animais recebendo probióticos como os animais do tratamento controle obtiveram um crescimento positivo contínuo de acordo com a evolução da idade dos animais.

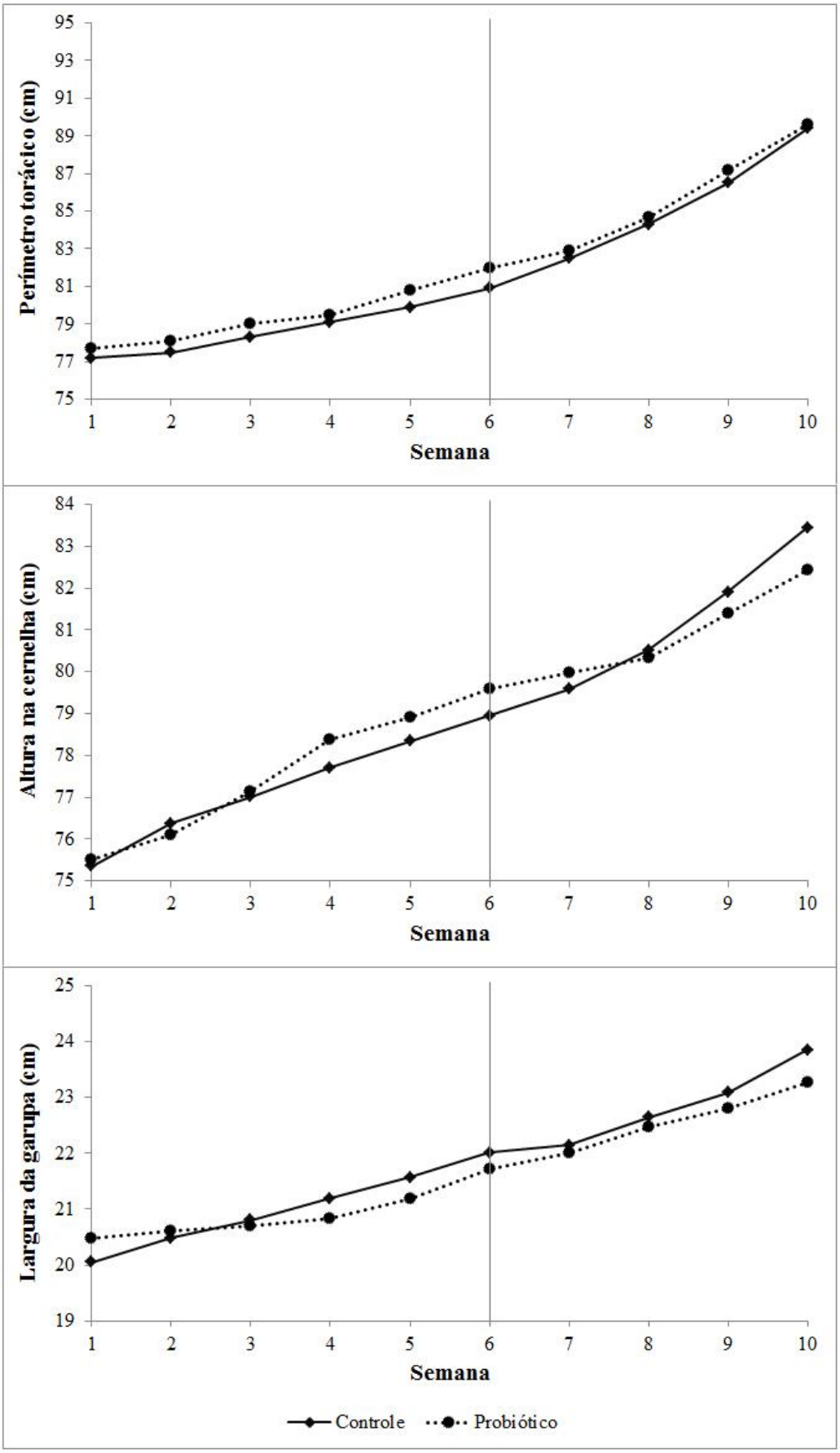

Figura 4.4 - Medidas do perímetro torácico, altura na cernelha e largura da garupa, de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Em geral, resultados relativos ao desempenho animal e consumo em bezerros recebendo ou não probióticos são muito diversos.

Em um estudo realizado por Timmerman et al. (2005) com 360 bezerros da raça Holandês, no período de inverno, observou-se que animais suplementados com probióticos da espécie *Lactobacillus* obtiveram resultados positivos em relação ao peso corporal durante as duas primeiras semanas de vida, ganho de peso diário durante as 8 primeiras semanas de vida e melhora na eficiência alimentar e peso corporal depois da 8ª semana de vida dos animais.

Cruywagen, Jordan e Wenter (1996) obtiveram resultados semelhantes somente nas duas primeiras semanas de idade, com animais recebendo probiótico *L. acidophilus* apresentando maior ganho de peso diário (P<0,01) que os animais controle. Além disso, os animais controle tiveram perda de 4% do peso inicial na segunda semana de vida, enquanto os animais recebendo probiótico praticamente mantiveram o peso inicial nessa fase, perdendo apenas 0,8% do peso inicial.

Meyer et al. (2001) realizaram experimento com 69 bezerros da raça Holandês para avaliar a adição de probiótico constituído por *Lactobacillus acidophilus, Enterococcus faecium e Saccharomyces cerevisiae.* O fornecimento de probiótico melhorou o ganho de peso (com probiótico=0,22 vs. sem probiótico=0,16 kg/dia), conversão alimentar até o desaleitamento (2,62 vs. 3,85) e conversão alimentar após o desaleitamento (1,66 vs. 2,03).

Em contrapartida há estudos onde os resultados foram nulos em relação a suplementação de probiótico em bezerros leiteiros. Duarte et al. (2006) não observaram efeito positivo da suplementação de 12 g/dia de probiótico em estudo com 20 bezerros, em relação ao desempenho durante o aleitamento e também durante o período de desaleitamento na oitava semana de vida. Em outro estudo, onde os animais receberam 6 litros/dia de dieta liquida com probiótico, não houve diferença significativa no ganho de peso e medidas corporais dos animais recebendo probiótico com os animais do grupo controle (GONÇALVES et al., 2000).

4.9.3 Escore fecal

O escore fecal, ou seja, característica fluída das fezes foi avaliada conforme Larson et al. (1977), onde o escore vai de 1 a 4. O autor caracterizou os escores de acordo com a fluidez como: 1 = fezes firmes; 2 = não possui forma e se espalha um pouco (ex.: consistência de sorvete); 3 = consistência pastosa para líquida (ex.: massa de bolo); 4 = consistência líquida (ex.: suco de laranja).

Embora se esperasse que a suplementação com probiótico causasse uma diminuição na ocorrência de diarreias nos bezerros, não foi observado efeito (P>0,05) no escore fecal dos animais, nem no período de aleitamento, nem no período após o desaleitamento (Figura 4.5).

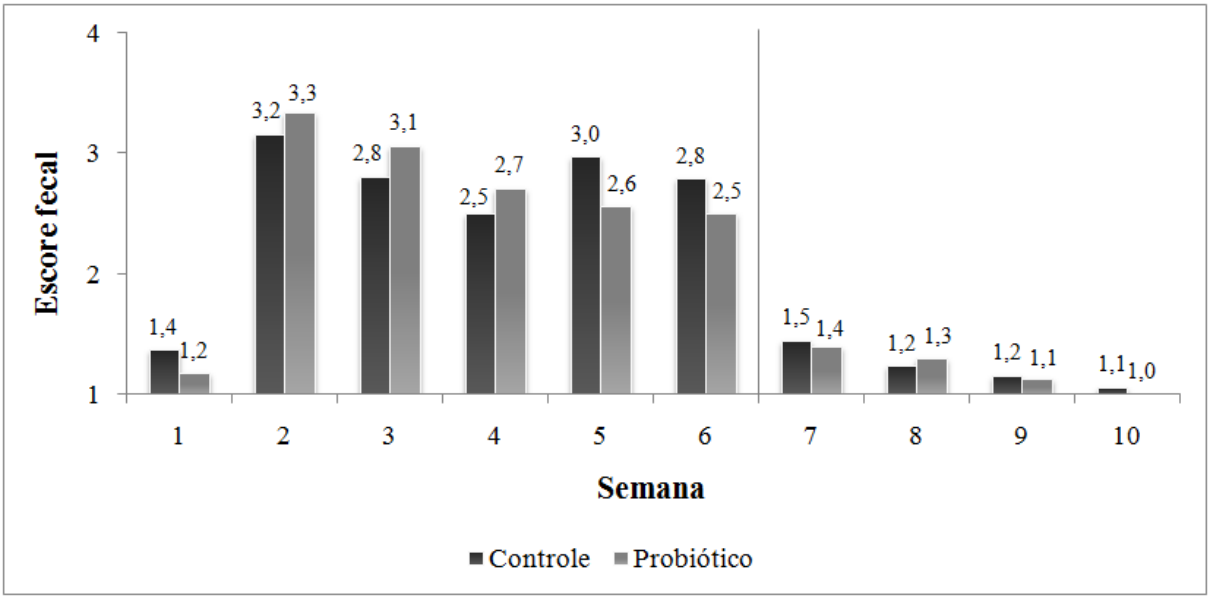

Figura 4.5 - Escore fecal (sendo 1 = fezes normais e 4 = diarreia severa), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

No gráfico (Figura 4.5) escore fecal acima de 2,5 é considerado diarreia. Segundo Millemann (2009), é comum que na segunda e terceira semana de idade a ocorrência de diarreia em bezerros seja mais frequente, entrentanto é evidente que no período de aleitamento (até a sexta semana), o escore fecal foi relatado sempre alto, indicando sempre diarreia, ou seja, escore acima de 2,5. Provavelmente esse alto índice de diarreia seja consequência da quantidade de dieta líquida que os animais consumiam (6 litros/dia ou ≅15,4% do peso corporal ao nascer/dia). Bezerros que recebem uma quantidade de dieta líquida maior que do que o normal recomendado (≅10% do peso corporal ao nascer/dia), tendem a apresentar fezes mais fluídas durante o período de aleitamento (DE PAULA, 2012; DIAZ et al., 2001).

Em relação a estudos relacionando saúde dos animais com a suplementação de probióticos, os resultados obtidos são variados. Görgülü et al. (2003), realizou um experimento fornecendo 2 g/dia de probiótico de bactérias da espécie *Lactobacillus* e concluiu que o fornecimento melhorou o quadro geral de saúde dos animais, com diminuição de ocorrência de diarreia e problemas respiratórios, diminuindo o custo com medicamentos. Outro estudo realizado por Timmerman et al. (2005) demonstrou que o uso de probióticos reduz a incidência e o número médio de dias com diarreia em animais, consequentemente diminuindo a taxa de mortalidade.

Já em outros estudos, resultados como obtidos por Gonçalves et al. (2000), o uso de probióticos com bactérias *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis* e *Bacillus subtilis* em bezerros não proporcionou diferença com o tratamento controle em relação a ocorrência de diarreias ou mortalidade dos animais.

Higginbotham e Bath (1993) realizaram dois experimentos, o primeiro utilizando probióticos de *Lactobacillus acidophilus* com 116 bezerros da raça Holandês, e o segundo utilizando probióticos *L. acidophilus* e *Streptococcus faecium* com 75 bezerros. Em nenhum dos experimentos foi observada diferença (P>0,05) em relação ao escore fecal ou ocorrência de diarreia nos animais suplementados ou não. Resultados semelhantes também foram obtidos por Garcia (2008).

É importante ressaltar que a diarreia em bezerros é algo comum com etiologias multifatoriais, tendo como suma importância diversos fatores como consumo de colostro nos dois primeiros dias de vida, manejo, características climáticas e características do ambiente onde os animais são criados. As vantagens que a utilização de probióticos pode trazer aos animais podem ser anuladas quando um ou mais desses fatores são prejudiciais aos bezerros, resultando em danos à saúde desses animais.

4.9.4 Análises bioquímicas plasmáticas

Todas as análises bioquímicas realizadas (glicose, β-hidroxibutirato, proteínas totais e albumina) não apresentaram diferenças (P>0,05) entre os tratamentos, com excessão da concentração de cortisol onde a média do período total (P<0,05) e média no período de desaleitamento (P<0,04) foi maior para os animais recebendo probiótico, no entanto não houve efeito de idade relacionado à concentração plasmática de cortisol. Para os outros parâmetros plasmáticos analisados, foi observado efeito da idade dos animais (P<0,001), conforme apresentado na Tabela 4.6 e Figuras 4.6 a 4.10.

Tabela 4.6 - Concentrações plasmáticas de glicose, β-hidroxibutirato (βHBA), proteínas totais, albumina e cortisol de bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

	Tratamento		EPM[1]	P<[2]		
	Controle	Probiótico		T	I	TxI
Glicose, mg/dL						
Inicial[3]	90,06	87,42	3,56	0,58	---	---
Ao desaleitamento[3]	71,96	70,44	3,56	0,76	---	---
Média do período total	81,08	77,96	2,34	0,30	<,0001	0,17
βHBA, mmol/L						
Inicial[3]	0,039	0,050	0,03	0,80	---	---
Ao desaleitamento[3]	0,178	0,173	0,03	0,91	---	---
Média do período total	0,196	0,213	0,02	0,48	<,0001	0,86
Proteínas totais, mg/dL						
Inicial[3]	5,73	6,13	0,23	0,23	---	---
Ao desaleitamento[3]	6,11	6,17	0,35	0,91	---	---
Média do período total	6,31	6,40	0,17	0,72	<,0001	0,72
Albumina, mg/dL						
Inicial[3]	2,59	2,68	0,13	0,63	---	---
Ao desaleitamento[3]	2,62	2,67	0,12	0,76	---	---
Média do período total	2,81	2,85	0,07	0,68	<,0001	0,88
Cortisol, µg/dL						
Ao desaleitamento[3]	1,13[a]	1,56[b]	0,14	0,04	---	---
Média do período[4]	1,11[a]	1,31[b]	0,07	0,05	0,16	0,22

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito entre os tratamentos; I = efeito da idade dos animais; TxI = efeito entre tratamento e idade
[3] Inicial = valores médios à segunda semana, Ao desaleitamento = valores médios à sexta semana
[4] Valores médios relativos à quarta, sexta e oitava semana de idade

A análise e o acompanhamento de valores de alguns componentes sanguíneos contribuem para que seja possível realizar um melhor monitoramento do status nutricional e desenvolvimento do animal. Além disso, são excelentes ferramentas para monitorar o desempenho de um único animal ou de um rebanho, diagnosticar distúrbios metabólicos ou qualquer outro parâmetro que ajude no diagnóstico de alguma patologia (LIMA et al., 2012).

Os valores de glicose observados na Figura 4.6 representam valores de pico devido à metodologia utilizada para obtenção de amostras sanguíneas. Os valores de glicose não diferiram estatisticamente entre os tratamentos.

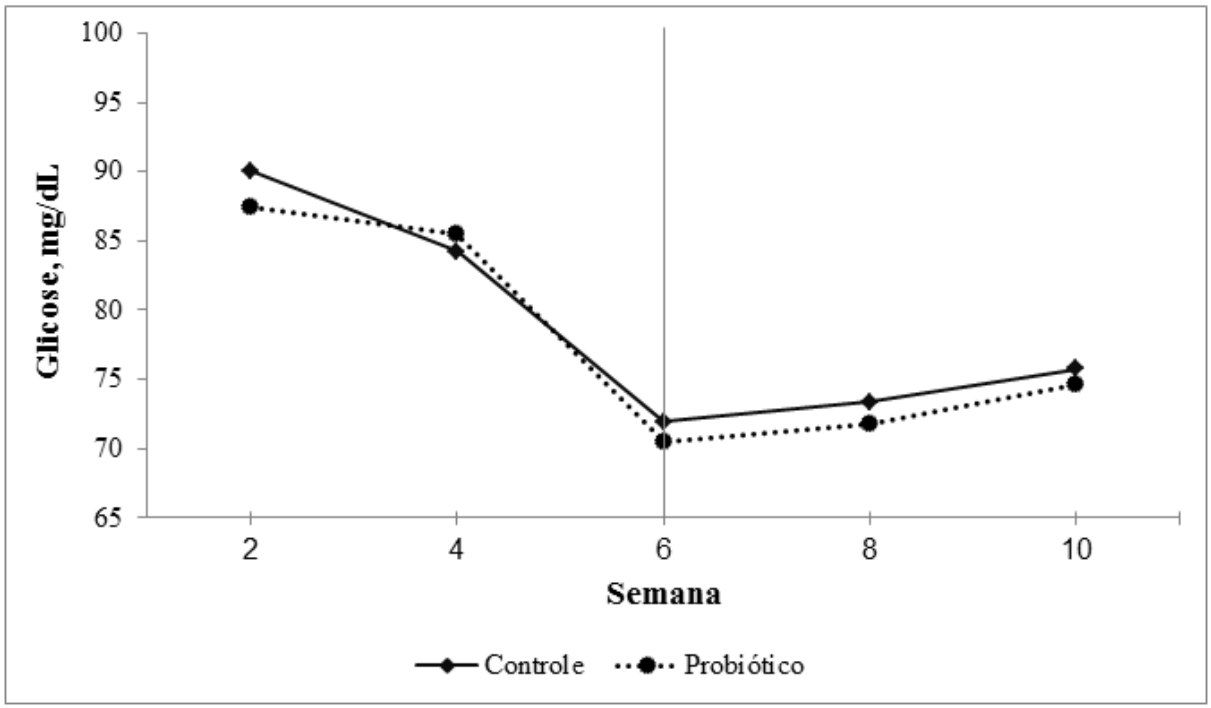

Figura 4.6 - Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Os valores se encontram na faixa da normalidade. Segundo Swenson; Reece (1996), valores de glicose em bezerros em aleitamento variam de 80 a 120 mg/dL. Outros autores relatam valores um pouco menores, porém dentro dos valores observados neste estudo. Bittar et al. (2009) relataram valores médios de glicose plasmática para bezerros holandeses entre 69,22 e 72,90 mg/dL. Bernardes et al. (2007), obteve valores médios de glicose em seus estudos em torno de 69,6 mg/dL.

Valores plasmáticos de glicose apresentaram um comportamento decrescente conforme o avanço da idade dos animais, sendo essa queda devido à transição dos animais de pré-ruminante para ruminantes funcionais. Bezerros na fase de pré-ruminante possuem uma digestão bastante semelhante à de monogástricos, ou seja, a dieta liquida consumida é absorvida pelo intestino e metabolizada transformando lactose em glicose circulante. Com o desenvolvimento das funções do rúmen como câmara de fermentação e aumento da população de microrganismos ruminais, há um aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), as quais se tornam a fonte principal de energia para os bezerros. Com isso há uma modificação no metabolismo, com diminuição da capacidade de absorção de glicose pelo intestino delgado (HAYASHI et al., 2006)

Segundo Donkin e Armentano (1995), a glicose proveniente da dieta líquida vai tendo seus valores diminuídos conforme a idade, como reflexo do desenvolvimento ruminal e

também devido à diminuição significativa da capacidade que os hepatócitos possuem de metabolizar lactato em glicose.

As concentrações plasmáticas de β-hidroxibutirato observadas nos animais suplementados com probiótico e nos animais do grupo controle se apresentaram dentro de faixa normal, com valores crescentes conforme a idade dos animais (Figura 4.7). Coverdale et al. (2004) obtiveram resultados semelhantes, com média do período total de 0,16 mmol/dL, 0,11 mmol/dL antes do desaleitamento e 0,35 mmol/dL no período após o desaleitamento. Concentrações plasmáticas de β-hidroxibutirato observadas na Figura 4.12 durante a quarta e quinta semana em animais sendo alimentados com 6 litros de sucedâneo por dia corroboram com trabalho feito por Kristensen et al. (2007). Em teoria, o fornecimento de bactérias ruminais via oral para bezerros, poderia proporcionar ao rúmen, um ambiente mais adequado à um desenvolvimento precoce, devido que essas bactérias são responsáveis pela fermentação de alimentos sólidos ingeridos por ruminantes, entretanto neste estudo, não houve esse possível efeito benéfico.

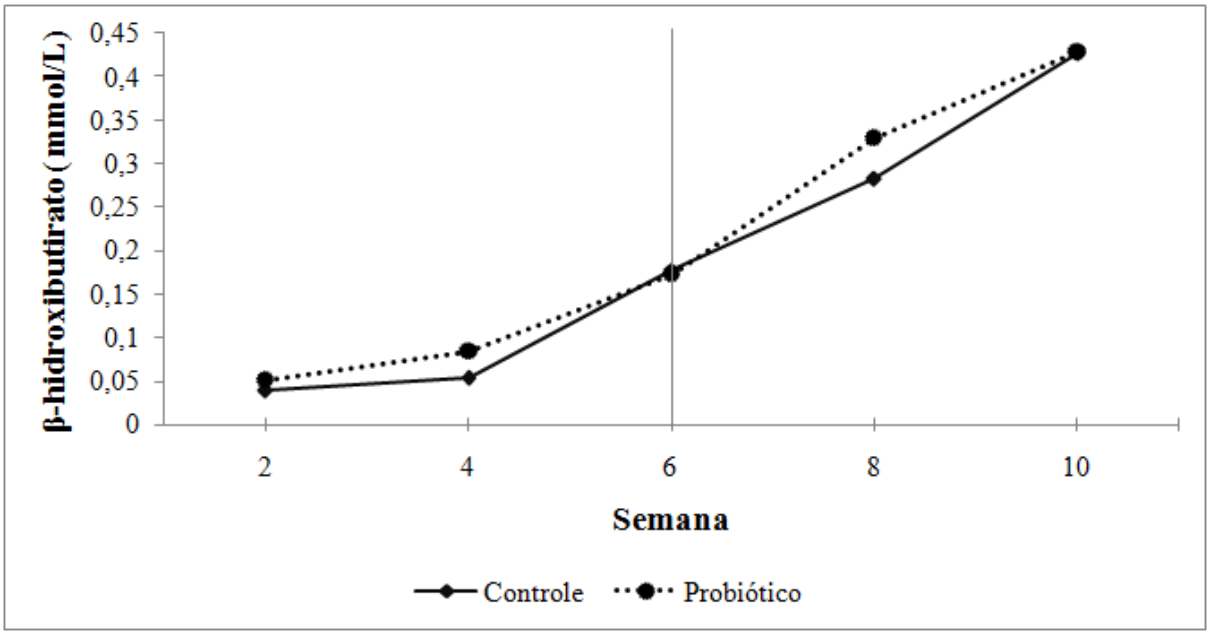

Figura 4.7 - Concentrações plasmáticas de β-hidroxibutirato (mmol/L), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Para que o rúmen se desenvolva e comece a produzir AGCC e estabilizar a microflora, é preciso que o animal pré-ruminante comece a consumir matéria seca proveniente de dieta sólida, de preferência alimento concentrado devido ao seu perfil de fermentação. Com o desenvolvimento do rúmen há um aumento na produção de AGCC, início do metabolismo ruminal com produção de corpos cetônicos pelo epitélio ruminal. Durante as primeiras

semanas de vida dos bezerros, o tecido epitelial do rúmen oxida glicose e butirato a taxas semelhantes. Conforme o avanço da idade dos animais ocorre uma diminuição da oxidação de glicose e aumento da oxidação de butirato (QUIGLEY et al., 1991; BALDWIN et al., 2004).

Dos corpos cetônicos, o β-hidroxibutirato é o mais predominante e estável encontrado na corrente sanguínea, por isso é usualmente o mais mensurado (SANTOS, 2006). β-hidroxibutirato é um forte parâmetro para estimar o desenvolvimento do rúmen, uma vez que, bezerros vão se tornando ruminantes funcionais com o avançar da idade e com o aumento do consumo de alimentos sólidos, consequentemente começam a utilizar os AGCC como principal fonte de energia, metabolizando-os em corpos cetônicos. Esse fato se torna mais acentuado após o desaleitamento (HAGA et al., 2008).

As concentrações de proteínas plasmáticas totais não foram afetadas de forma significativa (P>0,05) em resposta à suplementação de probióticos via oral. Foi observado efeito da idade nas concentrações, com valores crescentes de acordo com o avanço da idade dos animais (Figura 4.8).

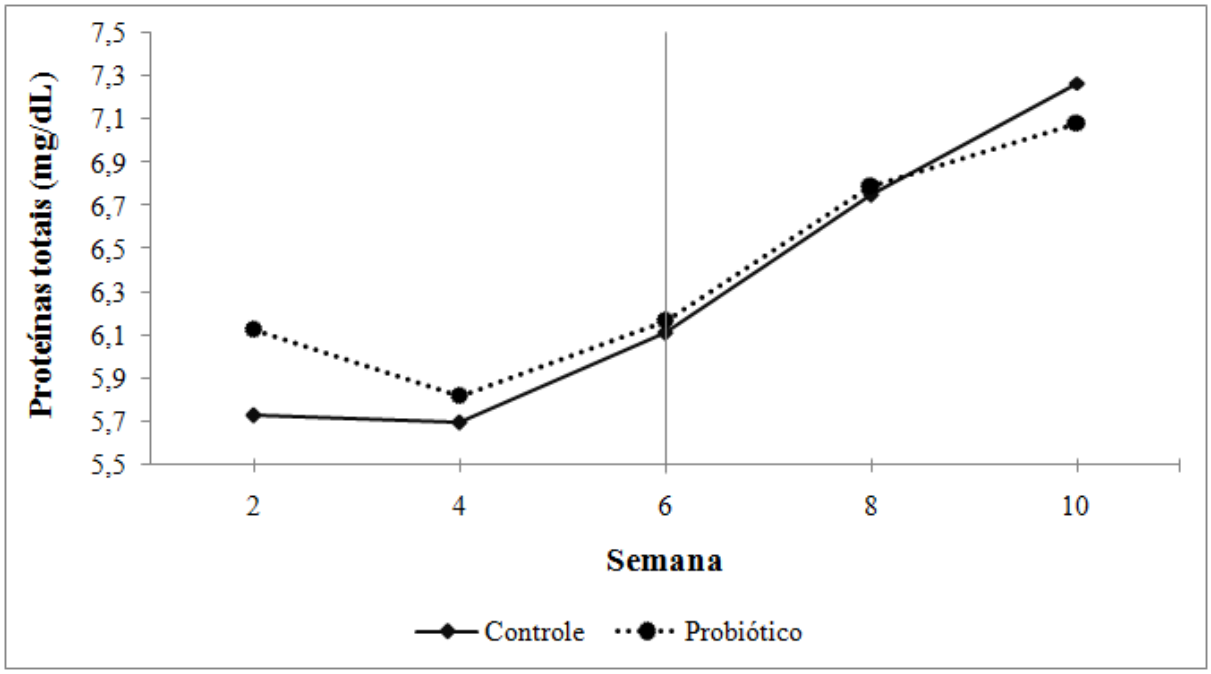

Figura 4.8 - Concentrações plasmáticas de proteínas totais (mg/dL), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Segundo Luca e Reis (2001), a concentração de proteína total plasmática é um bom parâmetro para avaliar a saúde e estado nutricional de um animal, uma vez que valores elevados podem indicar casos de desidratação. Dentre as proteínas totais no plasma, existem mais de trezentos tipos que já foram identificadas, cada uma com sua função, sendo que

concentrações fora do normal podem ser consequências de patologias. Em geral, sua função no organismo do animal é o equilíbrio acidobásico, pressão oncótica, imunidade humoral, transporte, atividade enzimática e coagulação (MOTTA, 2009).

Poucos trabalhos avaliam o efeito da suplementação de probiótico nas concentrações plasmáticas de proteína total. Conforme Costa et al. (2007) é conhecido que, logo após o nascimento do bezerro as concentrações de proteína total no sangue são baixas devido à correlação com a concentração de imunoglobulina que é baixíssima ao nascer. Com a ingestão de colostro ocorre um rápido aumento da fração de globulinas o que aumenta também as concentrações de proteínas totais. Conforme a idade do animal avança, sua capacidade endógena de produção de imunoglobulina aumenta, consequentemente os valores de proteínas totais se tornam crescente com a idade, de acordo com o demonstrado na Figura 4.8, onde a concentração de proteína sérica total apresentou variações estatisticamente significativas ($p<0,0001$) com o desenvolvimento etário.

As concentrações de albumina (Figura 4.9) não foram afetadas de forma significativa ($P>0,05$) pela suplementação de probióticos via oral. No entanto, foi observado efeito significativo de idade nas concentrações de albumina, embora não tenha havido efeito da interação idade e suplementação de probiótico ($P>0,05$).

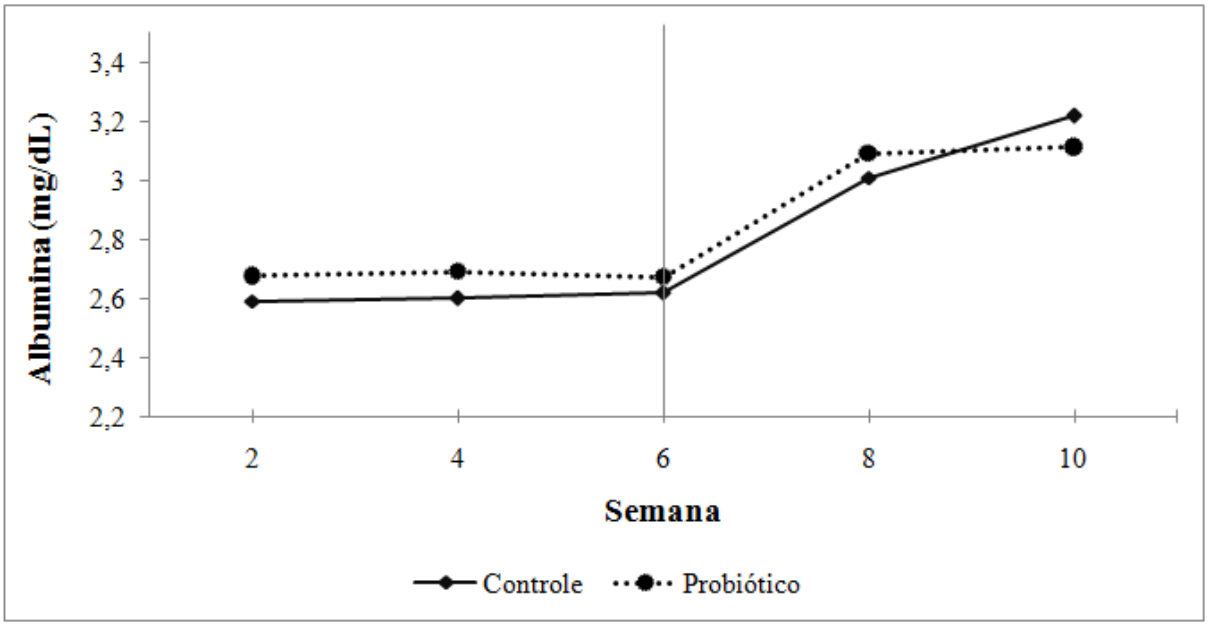

Figura 4.9 - Concentrações plasmáticas de albumina (mg/dL), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

A albumina compreende em torno de 60% das proteínas presentes no plasma, com tendência a diminuir sua porcentagem em relação a proteínas totais de acordo com o avanço

etário dos animais, devido a uma maior produção de globulinas (KANEKO, 1997; MOTTA, 2009). Suas funções no organismo são várias, dentre as mais importantes está a contribuição do efeito osmótico do plasma e transporte e armazenamento de várias substâncias pouco solúveis em água, como o cálcio e alguns hormônios, que são regulados, de certa forma, pela albumina (MOTTA, 2009). Os valores obtidos de albumina (Figura 4.9) são compatíveis aos trabalhos realizados por Daniele et al. (1994); Coppo (2004); Lima et al. (2012), podendo então serem considerados normais.

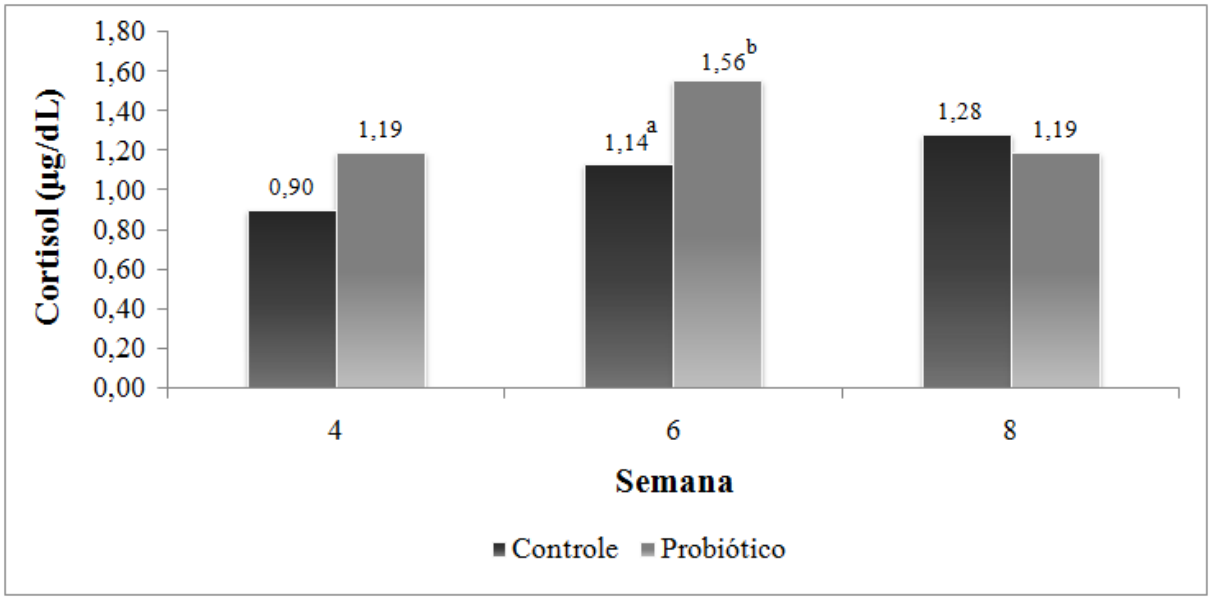

Figura 4.10 - Concentrações plasmáticas de cortisol (µg/dL), durante a quarta, sexta (período de desaleitamento) e oitava semana de idade de bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

O cortisol é o principal hormonio glicocorticóide produzido pelo córtex suprarenal, que provoca várias mudanças no metabolismo do organismo. Na corrente saguínea, a maior parte do cortisol encontra-se ligada a proteínas como, por exemplo, a albumina e o restante, considerado o cortisol ativo, encontra-se na forma livre no plasma. Sua concentração sanguínea é muito inconstante, pois a vida média é de 80-100 min (BUERNO; GOUVÊA, 2011).

O estresse é um dos principais fatores que estimulam o córtex e a medula adrenal, resultando na síntese de hormônios relacionados ao estresse como a adrenalina e o cortisol. Altas concentrações de cortisol, além de provocar mudanças no metabolismo da glicose, provocam mudanças no sistema imunológico do animal, induzindo o aumento de neutrófilos circulantes e diminuição de linfócitos. Devido ao cortisol estar envolvido na linfopenia, o aumento da sua síntese no organismo significa a diminuição da efetividade da resposta

imunitária, aumentando a propensão ao surgimento de uma enfermidade, por isso, animais que passam por períodos prolongados de estresse (estresse crônico) são mais susceptíveis a doenças (PAES et al., 2012).

Para bezerros, várias situações podem ser consideradas situações de estresse tanto psicológico como físico (GRANDIN, 1997), mas para Loerch e Fluharty (1999) o desaleitamento é um dos fatores mais estressantes a esses animais, pois além da mudança de dieta, esses animais normalmente são submetidos a um novo ambiente.

Segundo USDA (2007) o momento de decisão para o desaleitamento deve ser baseado na quantidade de consumo de concentrado diário relativo a 2% do peso vivo ao nascer, por três dias consecutivos, normalmente animais com 8,2 semanas de idade estão preparados para essa transição alimentar. Neste trabalho os animais recebendo probiótico foram desaleitados com 6 semanas de idade consumindo a quantidade de 1,06% do peso vivo ao nascer de concentrado inicial, e o grupo controle consumindo apenas 0,88%.

Para amenizar o estresse do desaleitamento, na situação de baixo consumo de concentrado nessa fase, foi realizado desaleitamento de forma gradual, reduzindo a quantidade de sucedâneo lácteo gradativamente por 4 dias.

Em um estudo realizado por Sweeney et al. (2010), avaliou o desaleitamento de forma abrupta e gradual em 22, 10 ou 4 dias, sendo todos os animais desaleitados com 41 dias de idade, os bezerros eram aleitados com leite pasteurizado na quantidade máxima de 12 kg/dia. Como conclusão dez dias após o desaleitamento dos animais, os animais desaleitados de forma abrupta perderam peso, enquanto os desaleitados de forma gradual obtiveram ganho de até 500g/dia e maior consumo de concentrado.

Dessa forma pode-se dizer que quando os animais submetidos ao sistema de desaleitamento precoce, e ingerindo dieta liquida em quantidades acima das recomendadas, o desaleitamento gradual pode ser benéfico. De acordo com a Figura 4.10, os níveis de cortisol dos animais apresentaram valores normais, correspondendo a trabalhos realizados por Hickey et al. (2003), Earley e Crowe (2002), Graf e Senn (1999), significando ausência de estresse prolongado, principalmente no período de desaleitamento.

Durante o período de desaleitamento (6ª semana) houve uma concentração de cortisol sérico maior nos animais recebendo probiótico em comparação ao grupo controle, essa diferença foi estatisticamente significativa, entretanto, na prática as médias de concentrações de cortisol sérico estão normais e baixa. Também em relação à 6ª semana, as concentrações de cortisol apresentaram valores um pouco acima em comparação à 4ª e 8ª semana, provavelmente por consequência do desaleitamento (Figura 4.10).

Em um trabalho realizado por Penha et al. (2011), avaliou-se a concentração de cortisol sérico em bovinos submetidos a estresse recebendo e não recebendo probióticos composto por bactérias *Lactobacillus acidophilus*, *Estreptococus faecium*, *Bifedobacterium thermoplhilum* e *Bifedobacterium longum*. Os resultados encontrados por Penha et al. (2011) foram opostos ao deste trabalho, sendo que os animais do grupo controle, após exposição a agentes estressores tiveram níveis de cortisol sérico maiores (P<0,05) em 22,8% em comparação aos animais recebendo probiótico. Já em um trabalho realizado por Ballou (2011), o forcecimento de probiótico não teve efeito significativo (P<0,134) em relação ao nível de cortisol sérico em relação aos animais do grupo controle.

Um dos fatores que poderia provocar estresse crônico aos animais seria o fator climático, porém conforme os índices de conforto térmico registrados durante todo o período experimental (Figura 3.5 e Figura 3.6) demonstrou que os animais não sofreram estresse devido ao clima, corroborando com os baixos dados de cortisol registrados (Figura 4.10).

4.9.5 Hemograma

Em relação ao eritrograma, com exceção do hematócrito inicial realizado na 2ª semana de vida dos animais, os valores médios não apresentaram diferenças (P>0,05) entre os tratamentos. Foi observado efeito da idade dos animais (P<0,05) para esses parâmetros, conforme apresentado na Tabela 4.7.

O hematócrito, também chamado de volume globular, representa a percentagem de eritrócitos no sangue. É um dos exames mais úteis no estudo da série vermelha e com ele podemos obter inúmeras informações. Os principais fatores clínicos que podem causar alterações no hematócrito são as anemias e alterações na hidratação, que podem refletir diretamente na proporção células vermelhas/plasma do sangue (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

Tabela 4.7 - Hematócrito, contagens totais de eritrócitos e volume globular médio obtido no hemograma de bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

	Tratamento		EPM[1]	P<[2]		
	Controle	Probiótico		T	I	TxI
Hematócrito, %						
Inicial[3]	25,8[a]	31,1[b]	1,55	0,03	---	---
Ao desaleitamento[3]	24,5	23,7	1,41	0,72	---	---
Média do período total	24,1	25,9	1,02	0,24	0,001	0,11
Eritrócitos totais, ($x10^6/\mu L$)						
Inicial[3]	9,94	10,00	0,92	0,96	---	---
Ao desaleitamento[3]	6,57	6,32	0,40	0,67	---	---
Média do período total	7,12	7,19	0,30	0,85	<,0001	0,56
VGM (fL)						
Inicial[3]	27,19	33,48	3,19	0,18	---	---
Ao desaleitamento[3]	38,33	36,91	2,80	0,72	---	---
Média do período total	35,41	36,94	1,62	0,52	0,04	0,71

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito entre os tratamentos; I = efeito da idade dos animais; TxI = efeito entre tratamento e idade
[3] Inicial = valores médios à segunda semana, Ao desaleitamento = valores médios à sexta semana

Segundo Millemann (2009), além dos fatores climáticos, o agente etiológico da diarreia pode provocar diferentes níveis de desidratação, fator que pode explicar a diferença significativa (P<0,05) nos valores de hematócrito na segunda semana, com os valores dos animais recebendo probiótico sendo maior e estabilizando na sexta semana de vida (Figura 4.11).

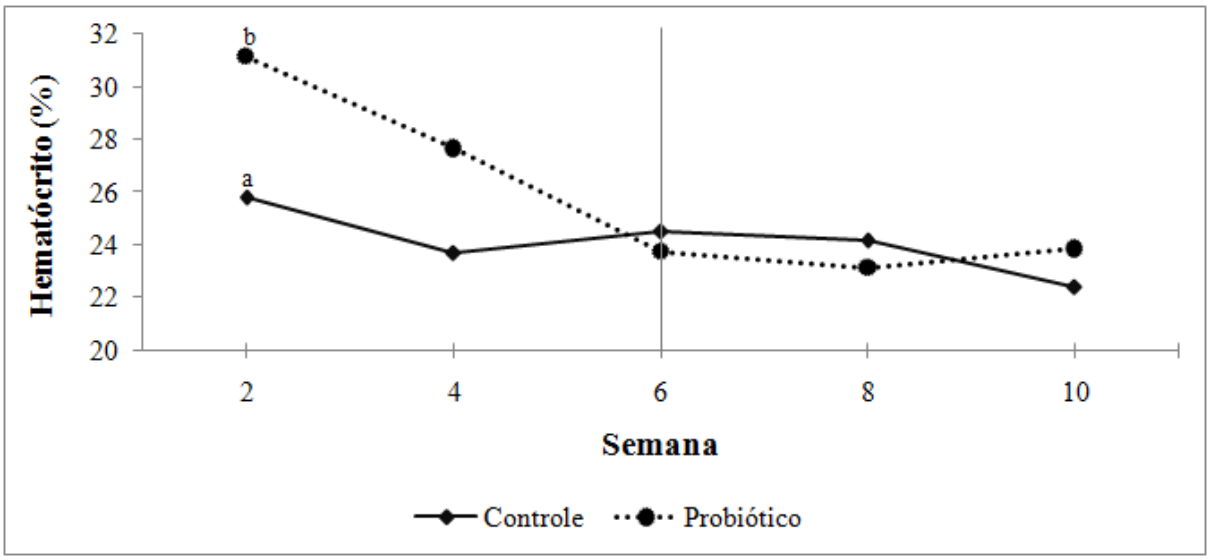

Figura 4.11 - Valores de hematócrito (%), de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Valores altos nos exames do eritrograma de bezerros nas primeiras semanas de vida, como hematócrito, contagem de eritrócitos e hemoglobina são considerados normais com tendência a diminuição gradativa desses valores até se estabilizarem (JAIN, 1993). Nos valores obtidos neste trabalho, pode-se observar exatamente isso, como é possível observar nas Figuras 4.11 e 4.12.

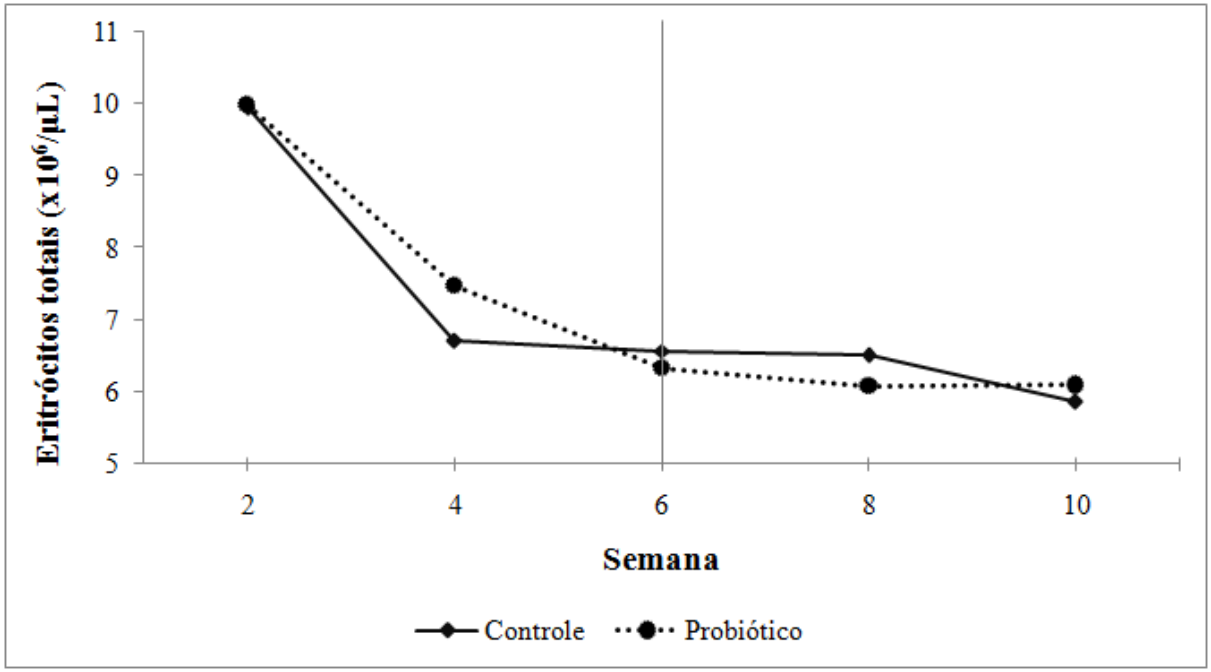

Figura 4.12 - Contagem total de eritrócitos ($x10^6/\mu L$) de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

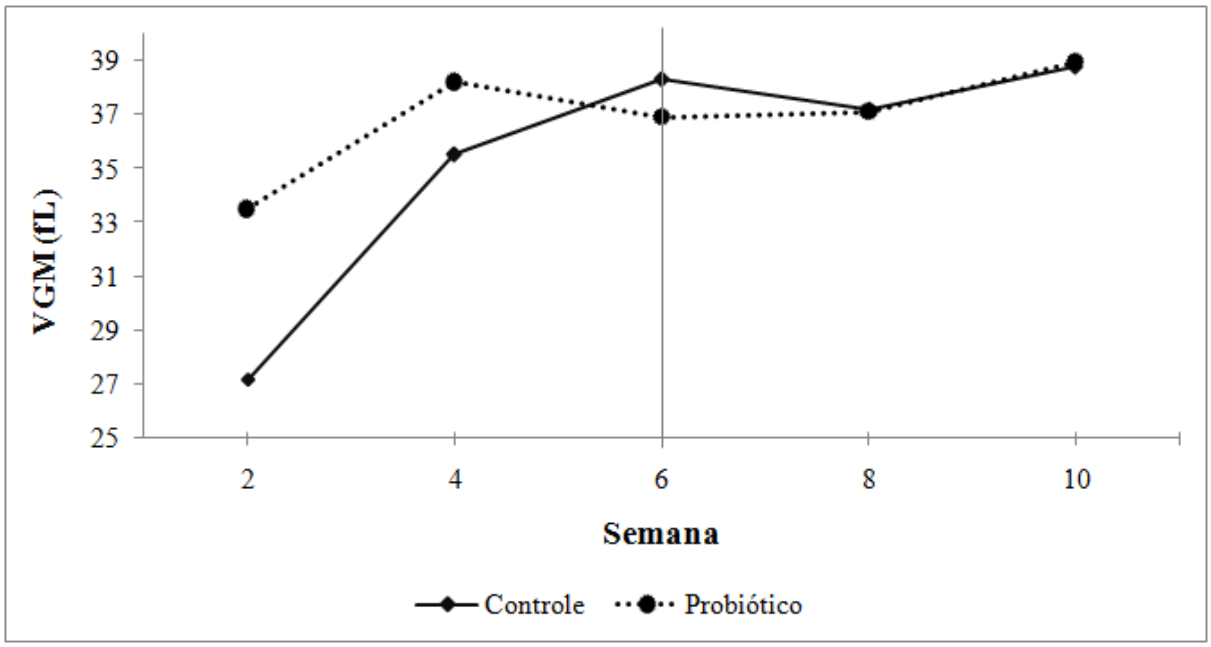

Figura 4.13 - Volume globular médio (fL) de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

O volume globular médio (VGM), que representa o tamanho das hemácias, é uma análise realizada principalmente para diagnosticar anemia em um individuo no rebanho, notificando se a anemia é do tipo microcítica ou macrocítica. É um parâmetro importante para diagnosticar se valores anormais do hematócrito representam apenas desidratação ou algo a mais. Os valores obtidos (Figura 4.13) mantiveram-se dentro da faixa de normalidade da espécie (ONES; ALISSON, 2007; ROCHA et al., 2010; JEŽEK et al., 2011), não sendo observada tendência de decréscimo com o avançar da idade, como os outros valores de eritrograma.

Em relação ao leucograma, não foi observada diferença significativa (P>0,05) na contagem total de leucócitos nem na contagem diferencial de leucócitos em função de suplementação com probióticos. No entanto, foi observado efeito da idade dos animais (P<0,05) para os valores de contagem total de leucócitos, contagem de neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes e monócitos (Tabela 4.8).

Os valores de contagem diferencial de leucócitos obtidos no experimento (Figura 4.14) estão dentro dos valores de referência para faixa etária segundo trabalhos realizados por Soliman e Zaki (1966), Birgel Junior et al. (2001), Brun-Hansen; Kampen; Lund (2006). O leucograma é uma ferramenta para avaliar o comportamento dos diversos tipos de células de defesa do organismo animal. Há vários fatores do qual contribuem para mudanças nos parâmetros leucocitários tais como fatores etários (ROCHA et al., 2008), fatores raciais (BIRGEL JUNIOR et al., 2001), estresse como desaleitamento e transporte, ou por fatores estressantes climáticos, psicológicos ou físicos (PAES et al., 2012; GRANDIN, 1997). Infecções também desencadeiam respostas do sistema imunológico com intuito de combater o microrganismo invasor (HOKAMA; MACHADO, 1997).

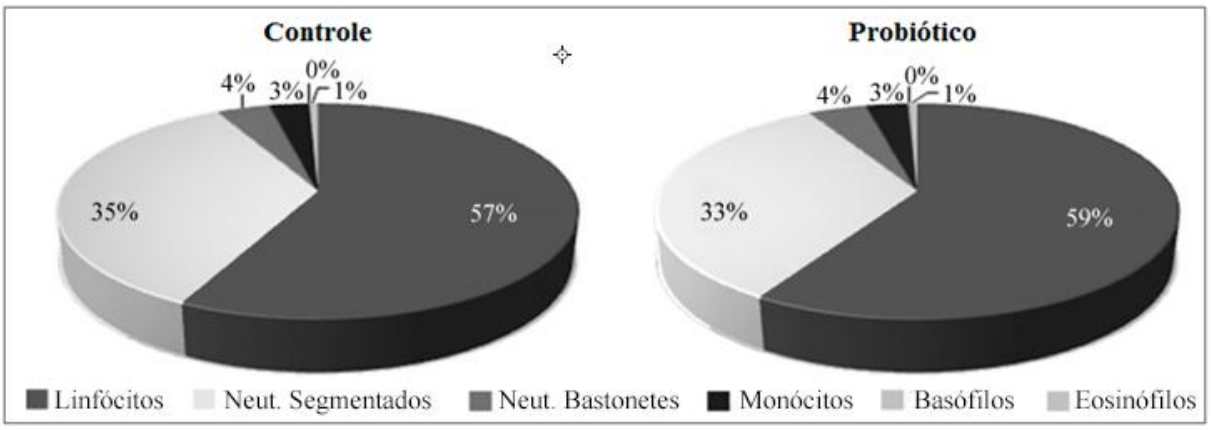

Figura 4.14 – Média do período total dos valores relativos da contagem diferencial de leucócitos de bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Tabela 4.8 - Contagem total e diferencial dos leucócitos obtido no leucograma de bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

	Tratamento		EPM[1]	P<[2]		
	Controle	Probiótico		T	I	TxI
Leucócitos totais, (x10^3/µL)						
Inicial[3]	12,10	12,39	0,82	0,81	---	---
Ao desaleitamento[3]	11,79	10,66	0,82	0,34	---	---
Média do período total	10,58	10,40	0,49	0,80	0,001	0,60
Linfócitos, (x10^3/µL)						
Inicial[3]	5,73	5,76	0,49	0,97	---	---
Ao desaleitamento[3]	6,54	6,80	0,52	0,73	---	---
Média do período total	5,97	6,12	0,31	0,75	0,20	1,00
Neutrófilos segm., (x10^3/µL)						
Inicial[3]	5,03	4,84	0,44	0,76	---	---
Ao desaleitamento[3]	4,36	3,24	0,46	0,10	---	---
Média do período total	3,65	3,47	0,32	0,70	<,0001	0,03
Neutrófilos bast., (nº/µL)						
Inicial[3]	742,2[a]	1148,2[b]	110,3	0,01	---	---
Ao desaleitamento[3]	454,1	204,3	116,8	0,14	---	---
Média do período total	426,0	459,0	57,6	0,69	<,0001	0,10
Monócitos, (nº/µL)						
Inicial[3]	477,5	578,3	69,7	0,32	---	---
Ao desaleitamento[3]	317,1	363,8	73,5	0,66	---	---
Média do período total	298,8	314,1	41,7	0,81	0,0001	0,80
Basófilos, (nº/µL)						
Inicial[3]	21,6	19,5	13,0	0,91	---	---
Ao desaleitamento[3]	12,3	19,8	13,8	0,71	---	---
Média do período total	9,8	18,5	6,4	0,34	0,77	0,93
Eosinófilos, (nº/µL)						
Inicial[3]	87,7	51,9	31,8	0,43	---	---
Ao desaleitamento[3]	96,8	40,2	32,9	0,24	---	---
Média do período total	61,3	58,7	20,3	0,93	0,32	0,19

[1] EPM: erro padrão da média
[2] T = efeito entre os tratamentos; I = efeito da idade dos animais; TxI = efeito entre tratamento e idade
[3] Inicial = valores médios à segunda semana, Ao desaleitamento = valores médios à sexta semana

Para avaliar o comportamento das células de defesa do organismo, como os linfócitos e neutrófilos são necessários dois dados do hemograma: a leucometria, ou seja, contagem total de leucócitos/µL (Figura 4.15) e a percentagem de cada tipo de célula pertencente ao sistema imunológico. Apesar da contagem de leucócitos na segunda semana apresentar uma leve leucocitose em comparação as outras devido ao período em que os animais são mais susceptíveis a infecções, os valores corroboram os valores de referência segundo trabalhos realizados por Birgel Junior (2001) e Ježek et al. (2011).

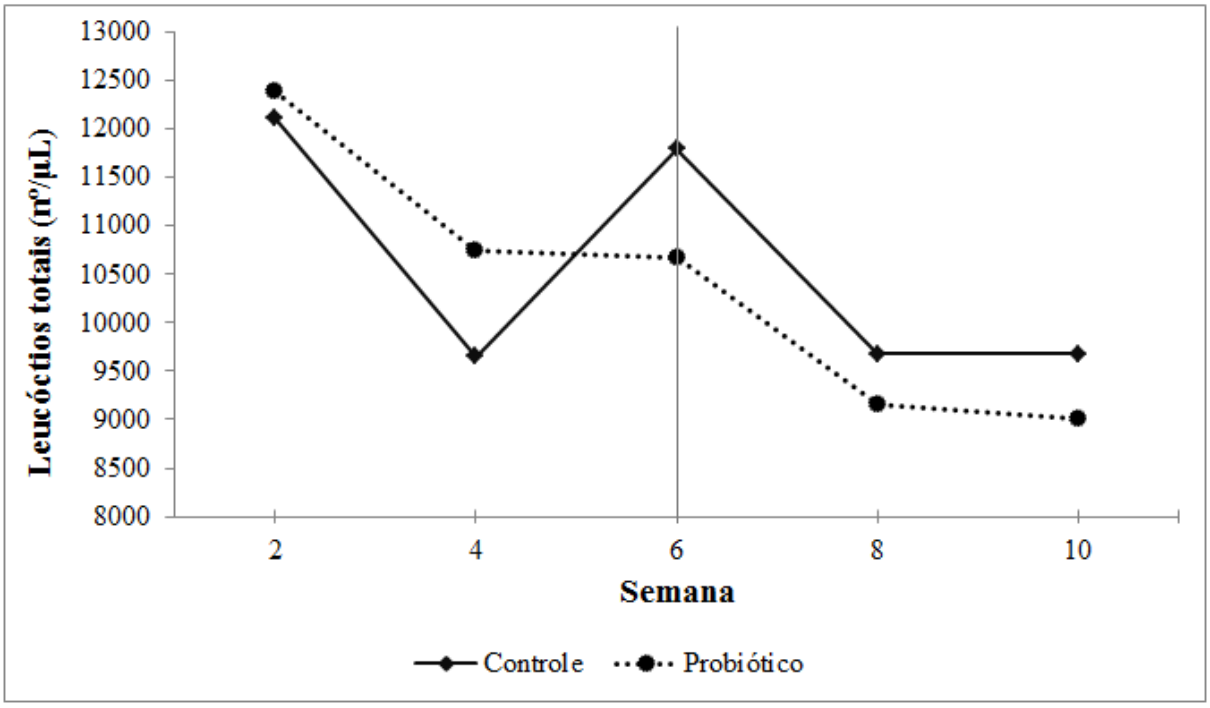

Figura 4.15 – Contagem total de leucócitos (nº/µL) de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Em ruminantes em geral, a proporção de neutrófilos e linfócitos geralmente é em torno de 1:2, e a resposta imunológica em relação aos neutrófilos é mais fraca em comparação a qualquer outra espécie animal (KAHN; LINE, 2011). O estresse agudo é um fator que desencadeia liberação de adrenalina e noradrenalina, que reflete em modificações bioquímicas, endócrinas, hematológicas e fisiológicas. Em relação ao sistema imunológico, a adrenalin estimula a síntese de fatores imunológicos (citocinas), que são capazes de provocar linfocitose (aumento de linfócitos) (MARTÍNEZ; ALVAREZ-MON, 1999).

Na Figura 4.16 é possível observar uma ligeira linfocitose em ambos os tratamentos na 6ª semana (período de aleitamento), mas com valores superiores para animais suplementados com probiótico na semana do desaleitamento ($P<0,05$), provavelmente devido a descargas de adrenalinas consequentes do estresse provocado pelo desaleitamento. Entretanto, a linfocitose

devido à descarga de adrenalina é algo passageiro, seguida posteriormente de linfopenia, principalmente em estresses prolongados, com aumento do nível de corticoide no organismo (FAILACE; FERNANDES; FAILACE, 2009). Pode-se concluir que, apesar dos níveis de cortisol de ambos tratamentos serem baixos (Figura 4.10) significando ausência de estresse crônico, a Figura 4.16 demonstra linfocitose exatamente no período de desaleitamento, provavelmente consequência de descarga de adrenalina no momento, sendo um forte indicador que os animais sofreram estresse pontual e momentâneo apenas.

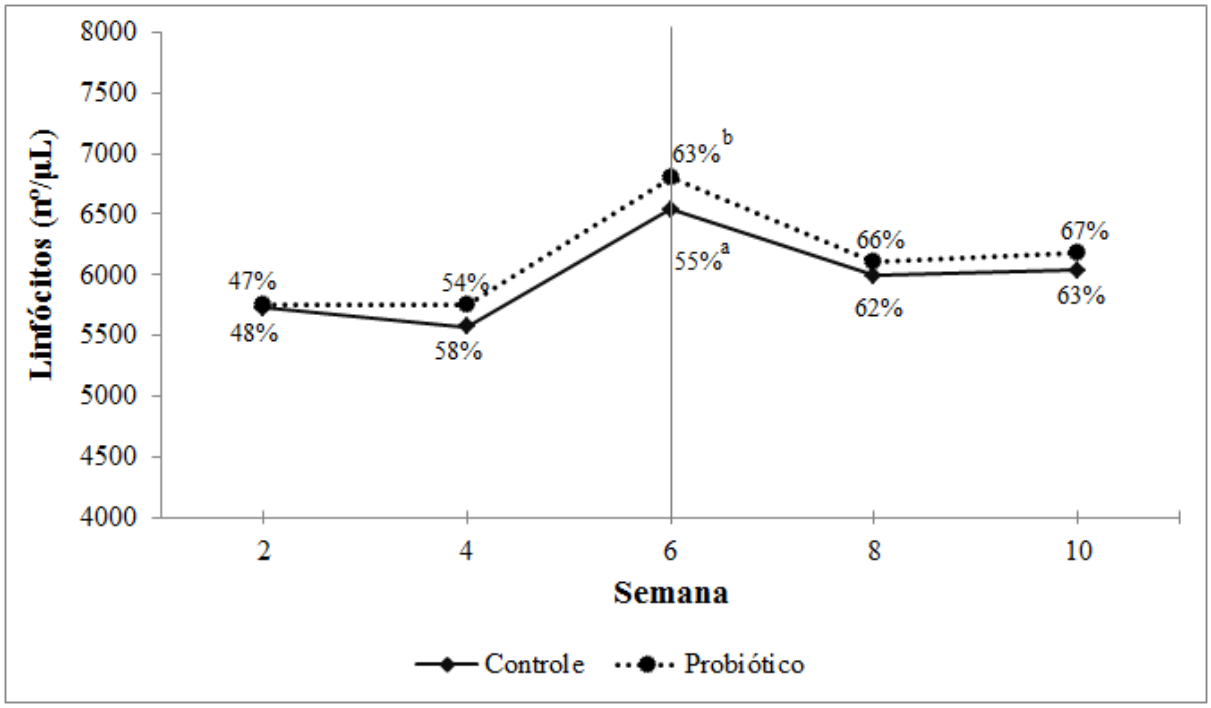

Figura 4.16 – Contagem diferencial de linfócitos (nº/µL) e valores relativos (%) de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Os neutrófilos em geral são células móveis com a função fagocítica, especializada em destruir microorganismos, liberadas na corrente sanguínea através de mediadores químicos consequentes de processos infecciosos (HOKAMA; MACHADO, 1997). A neutrofilia (aumento de neutrófilos) pode ser consequência de descargas adrenérgicas que estimulam a medula a produzir mais neutrófilos e liberá-los na corrente sanguínea, ou pode ser consequência de uma infecção. Infecções como no caso de diarreia, podem causar uma alta neutrofilia de curta duração com desvio à esquerda, significando que, há produção e liberação de neutrófilos, principalmente neutrófilos jovens, entretanto, são rapidamente perdidos na luz intestinal (FAILACE; FERNANDES; FAILACE, 2009).

Na Figura 4.17, é possível observar neutrofilia na segunda semana de idade dos animais, com valores ligeiramente maiores do que os valores de referência de 3.253±952/µL

(ROCHA et al. 2010) e 3.109±2.067/µL (BIRGEL JUNIOR et al., 2001). Também na segunda de semana de idade dos animais, foi observado neutrofilia com desvio à esquerda (Figura 4.18), com diferença significativa (P<0,05), mostrando que os animais recebendo probiótico tiveram um estímulo maior do sistema imunológico em combater agentes infecciosos.

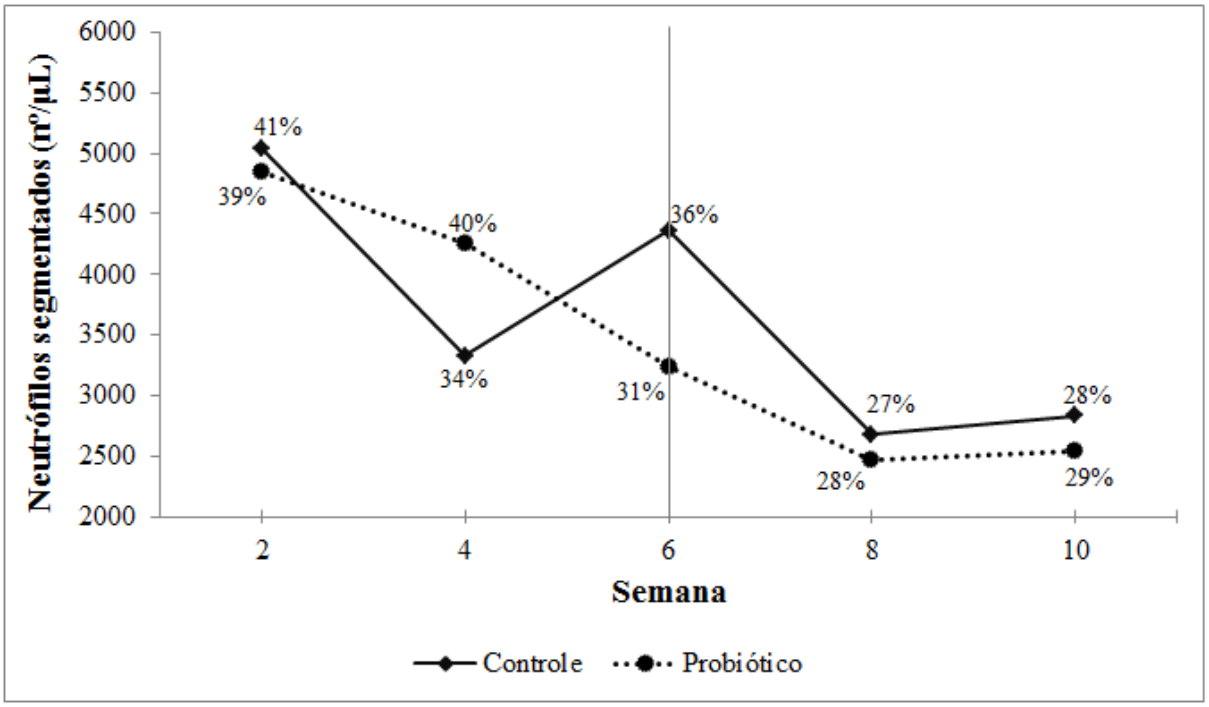

Figura 4.17 – Contagem diferencial de neutrófilos segmentados (nº/µL) e valores relativos (%) de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Esses resultados são condizentes à Figura 4.10, ou seja, bezerros são mais susceptíveis a incidência de diarreia na segunda semana de vida. De acordo com o escore de fezes realizado e os dados do leucograma é possível concluir que os animais apresentaram diarreia de origem infecciosa durante o período próximo à segunda semana de vida. Os valores leucocitários, principalmente de neutrófilos, se tornaram normais depois da segunda semana, entretanto, o escore fecal foi relativamente alto até a sexta semana, provavelmente devido à ingestão de dieta líquida maior do que 10% do peso corporal ao nascer. Outro fator que cauciona essa razão é que após o corte de fornecimento de dieta líquida o escore fecal cai drasticamente, representando que as fezes dos animais se tornaram firmes.

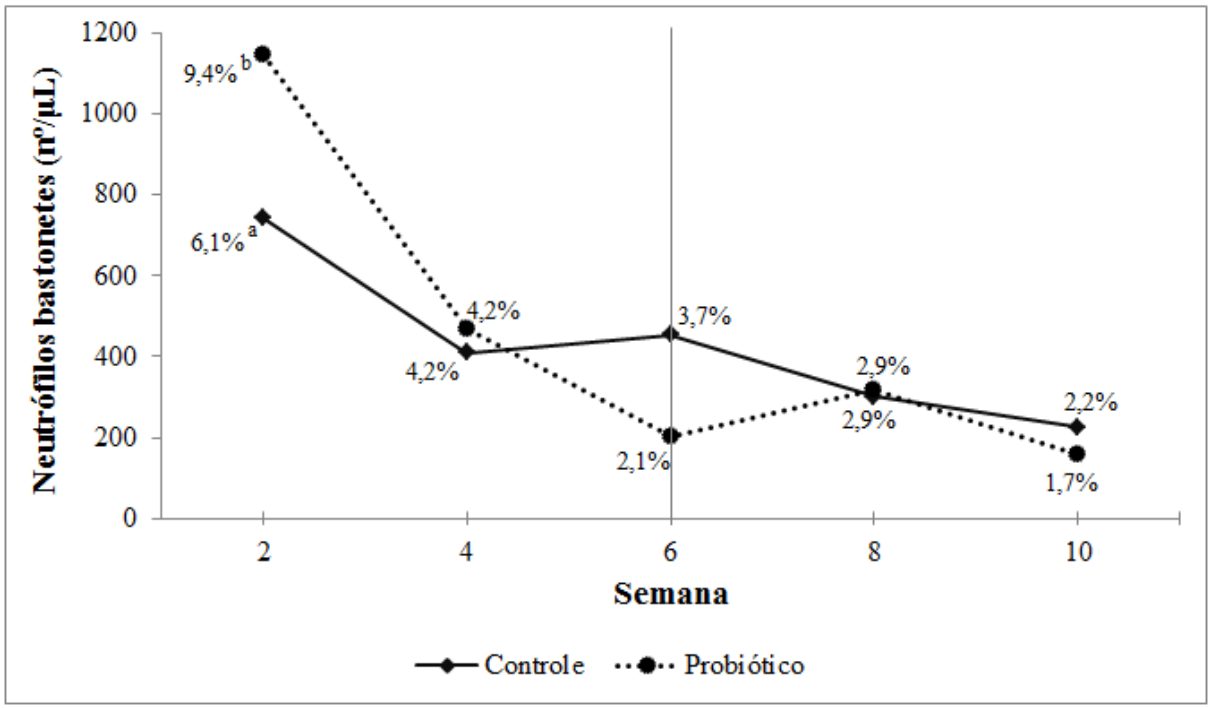

Figura 4.18 – Contagem diferencial de neutrófilos bastonetes (nº/µL) e valores relativos (%)de acordo com a idade, por bezerros suplementados ou não com probióticos via oral

Poucos trabalhos avaliaram o efeito do fornecimento de probióticos de bactérias ruminais nos valores de eritrograma e leucograma. Quintero-Gozalez, Comerford e Varga (2003) realizaram um trabalho fornecendo probióticos com bactérias *Lactobacillus acidolphilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidolphilus* para 56 animais da raça Holandês desde o nascimento até a oitava semana de vida, e não observaram alterações no hemograma dos animais. No trabalho de Kim et al. (2011), com a comparação do fornecimento de antibiótico e probiótico de bactérias ruminais via sucedâneo para 44 animais, também não mostrou diferenças no hemograma. Os resultados observados neste trabalho mostram valores semelhantes aqueles nos trabalhos realizados por Kim et al. (2011) e Quintero-Gozalez, Comerford e Varga (2003).

4.10 Conclusões

As avaliações de desempenho e as análises sanguíneas realizadas neste estudo sugerem que o fornecimento via oral de probióticos constituídos por bactérias ruminais para bezerros em período de aleitamento e pós-desaleitamento não apresenta benefícios para os animais, como por exemplo um melhor desempenho, melhor estado de saúde ou menor índice de estresse em períodos críticos como o desaleitamento.

Referências

ABE, F.; ISHIBASHI, N.; SHIMAMURA, S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.78, p. 2838-2846, 1995.

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.77, n.7, p. 2044-2050, 1994.

ÁVILA, F.A., FAIRBROTHER, J.M., LALLIER, R. Characterization of Escherichia coli strain isolated from diarrheic Bos indicus (Zebu) in the State of São Paulo, Brazil. In: **World Veterinary Congress**, 23, 1987. Montreal: World Veterinary Association, 1987. p. 444.

ÁVILA, F.A.; PAULILLO, A.C.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; LUCAS, F.A.; ORGAZ, A.; QUINTANA, J.L. Avaliação da eficiência de um probiótico no controle de diarréia e no ganho de peso de bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** Belo Horizonte, v.52, n.1, p. 41-46, 2000.

AZZAM, S.M.; NIELSEN, M.K. WERTH, L.A.; GREGORY, K.E.; CUNDIFF, L.V.; KOCH, R.M. Environmental effects on neonatal mortality of beef calves. **Journal of Animal Science.** Champaign, v.71, p. 282-290, 1993.

BAETA, F.C.; MEADOr, N.F.; SHANKLIN, M.D.; JOHNSON, H.D. Equivalent temperature index at temperatures above the thermoneutral for lactating dairy cows. **American Society of Agricultural Engineers**, St. Josephn. 87-4015, 1987. p. 21.

BALDWIN, R.L.; McLEOD, K.R.; KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant. **Journal of Animal Science.** Champaign, v.87, p. E55-E65, 2004.

BALLOU, M.A. Case study: effects of a blend of prebiotics, probiotics, and hyperimmune dried egg protein on the performance, health, and innate immune responses of Holstein calves. **The Professional Animal Scientist.** Champaign, v.27, p. 262-268, 2011.

BARBOSA, A.P.; SZTAJNBOK, J. Distúrbios hidroeletrolíticos. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, v.75, supl.2, p. S223-S233, 1999.

BENESI, F.J. Síndrome diarreia dos bezerros. **Revista CRMV-ES**. Vitória, v.2, n.3, p. 10-13,1999.

BERMAN, A.; FOLMAN, Y.; KAIM, M.; MAMEN, M.; HERZ, Z.; WOLFENSON, D.; ARIELI, A.; GRABER, Y. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.68, n.6, p. 1488-1495, 1985.

BERNARDES, E.B.; COELHO, S.G.; CARVALHO, A.U.; OLIVEIRA, H.N.; REIS, R.B.; SATURNINO, H.M.; SILVA, C.A.; COSTA, T.C. Efeito da substituição do feno *Tifton 85* pelo caroço de algodão como fonte de fibra na dieta de bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** Belo Horizonte, v.59, n.4, p. 955-964, 2007.

BIRGEL JUNIOR, E.H. D´ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J. BIRGEL, E.H. Valores de referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.** São Paulo, v.37, n.3, p. 136-141, 2001.

BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S.; SANTOS, F.A.P.; ZOPOLLATTO, M. Desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros alimentados com concentrado de diferentes formas físicas. **Revista Brasileira de Zootecnia.** Maringá, v.38, n.8, p. 1561-1567, 2009.

BUENO, J.R.; GOUVÊA, C.M.C.P. Cortisol e exercício: efeitos, secreção e metabolismo. **Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício**. Rio de Janeiro, v.10, n.3, p. 178-180, 2011.

BRUN-HANSEN, H.C.; KAMPEN, A.H.; LUND, A. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. **Veterinary Clinical Pathology.** Santa Barbara, v.35, n.2, p. 182-187, 2006.

CASTRO, J.O.; CAMPOS, A.T.; SOUSA, F.A.; SOUZA, C.V.; SANTOS, G.C.; AGUIAR, E.F.; ALMEIDA, A.K. Índice de temperatura equivalente para vacas leiteiras no município de Diamantina-MG. In: ZOOTEC 2009, 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Brasília: Associação Brasileira de Zootecnia, 2009. p. 1-4.

CHIODA, T.P.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; GARCIA, G.R.; PIGATTO, C.P.; RIBEIRO, C.A.M.; RAGAZZANI, A.V.F. Inibição do crescimento de Escherichia coli isolada de Queijo “Minas Frescal” por *Lactobacillus acidophilus.* **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.2, p. 583-585, 2007.

COLLINS, M.D.; GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the guti. **American Journal of Clinical Nutrition**. New York, v.69, p. 1052S-1057S, 1999.

COPPO, J.A. Biochemical demonstration of malnutrition state in early-weaned halfbred Zebu calves. **Revista de Investigaciones Agropecuarias.** Buenos Aires, v.33, n.1, p. 81-100, 2004.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e a resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1297-1303, 2004.

COSTA, J.N.; PEIXOTO, A.P.C.; KOHAYAGAWA, A.; SOUZA, T.S. Proteinograma sérico de bezerras da raça Holandesa do nascimento aos 150 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.** Salvador, v.8, n.4, p. 267-275, 2007.

COVERDALE, J.A.; TYLER, H.D.; QUIGLEY, J.D.; BRUMM, J.A. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.87, n.8, p. 2554-2562, 2004.

CROSS, M. L. Microbes vs. Microbes: imune signals generated by probiótico lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 34, n. 4, p. 545-553, 2002.

CRUYWAGEN, C.W., JORDAAN, I.; VENTER, L. Effect of lactobacillus acidophilus supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.79, p. 483-486, 1996.

CUNHA, D.N.F.V.; LIZIEIRE, R.S.; MARTUSCELLO, J.A.; CAMPOS, O.F. Influência da idade ao desaleitamento sobre o desenvolvimento de bezerros mestiços holandês-zebu, suplementados e não suplementados com cobalto. **Revista Universidade Rural**, Seropédica, v.23, n.1, p. 89-94, 2003.

DANIELE, C.; MACHADO NETO, R.; BARACAT, R.S.; BESSI, R. Efeito de diferentes manejos de fornecimento prolongado de colostro sobre os níveis de proteína e albumina séricas e desempenho de bezerras recém-nascidas. **Scientia Agrícola.** Piracicaba, v.51, n.2, p. 381-388, 1994.

DAVIS, C.L.; DRACKLEY, J.K. **The development, nutrition, and management of the young calf**. Ames: Iowa State University Press, 1998. p. 303-313.

DE PAULA, M.R. **Alterações no metabolismo energético e no desempenho de bezerros leiteiros em programas de aleitamento intensivo ou convencional**. 2012. p. 45-57. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

DICKS, L.M.T.; BOTES, M. Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: Health benefits, safety and mode of action. **Beneficial Microbes.** Wageningen, v. 1, n.1, p. 11-29, 2010.

DONKIN, S.S.; ARMENTANO, L.E. Insulin and glucagon regulation of gluconeogenesis in preruminating and ruminating bovine. **Journal of Animal Science.** Champaign, v.73, p. 546-551, 1995.

DONOVAN, D. C.; FRANKLIN, S. T.; CHASE, C. C. L.; HIPPEN, A. R. Growth and Health of Holstein Calves Fed Milk Replacers Supplemented with Antibiotics or Enteroguard. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.85, p. 947-950, 2002.

DUARTE, M.S.; QUEIROZ, A.C.; DTMANN, E.; COSTA, P.B.; BARBOSA, F.B.S.; GOMES, M.P.C.; RIBEIRO, M.D.; ZORZI, K.; ALVES, P.S.C.; YAMAZI, A.K. Desempenho de bezerros de origem leiteira submetidos a dois critérios de desmame associado ao uso de probiótico. In: ZOOTEC 2006, 2006, Pernambuco. **Anais...** Brasília: Associação Brasileira de Zootecnia, 2006. p. 1-5.

DURAN-SANDOVAL, D.; CARIOU, B.; PERCEVAULT, F.; HENNUYER, N.; GREFHORST, A.; VAN DIJK, T.H.; GONZALEZ, F.J.; FRUCHART, J.C.; KUIPERS, F.; STAELS, B. The farnesoid X receptor modulates hepatic carbohydrate metabolism during the fasting-refeeding transition. **The Journal of Biological Chemistry.** Bethesha, v.280, p. 29971–29979, 2005.

EARLEY, B.; CROWE, M.A. Effect of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological, and inflammatory responses. **Journal of Animal Science**. Champaign, v.80, p. 1044-1052, 2002.

ELAM, N.A.; GLEGHORM, J.F.; RIVERA, J.D.; GALYEAN, M.L.; DEFOOR, P.J.; RASHEARS, M.M.; YOUNTS-DAHL, S.M. Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* (strains np45 and np51) and propionibacterium freudenreichii on performance, carcass, and intestinal characteristics, and *Escherichia coli* strain o157 shedding of finishing beef steers**. Journal of Dairy Science**. Champaign. v.81, p. 2686-2698, 2003.

FAGAN, J.F.; DWYER, P.J.; QUINLAN, J.G. Factors that may affect the ocurrence of enteropathogens in the feces of diarrheic calves in Ireland. **Irish Veterinary Journal**. Dublin, v.48, p. 12-17, 1995.

FAILACE, R.R.; FERNANDES, F.B.; FAILACE, R. **Hemograma:** manual de interpretação. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. P.248-254, 277-279.

FRASER, T.; TILYARD, M. Complete blood count: in primary case. **BPAC Beter Medice,** Dunedin, v. 1, n. 1, p. 5-13, 2008.

FULLER, R. Probiotic in man and animals - a review. **Journal Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, p. 365-378, 1989.

FULLER, R.; BROOKER, B. E. Lactobacilli which attach to the crop epithelium of the fowl. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 27, p. 1305-1312, 1974.

GARCIA, G. R. **Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de Bacillus subtilis no desempenho de bezerros da raça holandesa**. 2008. p. 46. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, Jaboticabal, 2008.

GLABER, M.T.; TOZER, P.R.; HEINRICHS, A.J. Development of a cost analysis spreadsheet for calculating the costs to raise a replacement dairy heifer. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.83, p. 1104-1109, 2000.

GONÇALVES, G. D.; SANTOS, G. T.; RIGOLON, L. P.; DAMASCENO, J.C.; RIBAS, N. P.; VEIGA, D. R.; MARTINS, E. N. Influencia da adição de probióticos na dieta sobre o estado sanitário e desempenho de bezerros da raça Holandesa. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.37, n.1, p.10, 2000.

GÖRGÜLÜ, M.; SIUTA, A.; ÖNGEL, E.; YURTSEVEN, S.; KUTLU, H.R. Effect of probiotic on growing performace and heath of calves. **Pakistan Journal of Biological Sciences.** Faisalabad, v.6, n.7, p. 651-654, 2003.

GRAF, B.; SENN, M. Behavioural and physiological responses of calves to dehorning by heat cauterization with or without local anaesthesia. **Applied Animal Behaviour Science**. Amsterdam, v.62, n.2, p. 153-171, 1999.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science.** Champaign, v.75, p. 249-257, 1997.

GREENWOOD, R.H.; MORRIL, J.L.; TITGEMEYER, C. Using dry feed intake as a percentage of initial body weight as a weaning criterion. **Journal of Dairy Science.** v.80, p. 2542-2546, 1997.

GUANDALINI, S.; VAZIRI, H. Diarrhea: diagnostic and therapeutic advances. In: WU, G.Y. **Clinical Gastroenterology**. New York: Humana Press, 2011. p. 1-16.

HAGA, S.; FUJIMOTO, S.; YONEZAWA, T.; YOSHIOKA, K.; SHINGU, H.; KOBAYASHI, Y.; TAKAHASHI, T.; OTANI, Y.; KATOH, K.; OBARA, Y. Changes in hepatic key enzymes of dairy calves in early weaning production systems. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v. 91, n. 8, p. 3156-3164, 2008.

HAYASHI, H.; KAWAI, M.; NONAKA, I.; TERADA, F.; KATOH, K.; OBARA, Y. Development changes in the kinetics of glucose and urea in Holstein calves. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.89, n.5, p. 1654-1661, 2006.

HEINRICHS, J. How disease, management, and nutrition of the calf may affecting first lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL LEITE INTEGRAL, 1., 2011, Belo Horizonte. **Anais…** Belo Horizonte: Revista Leite Integral, 2011. p. 36-41.

HEINRICHS, A.J.; HEINRICHS, B.S.; HAREL, O.; ROGERS, G.W; PLACE, N.T. A prospective study of calf factors affecting age, body size, and body condition score at first calving of Holstein dairy heifers. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.88, p. 2828-2835, 2005.

HEINRICHS, A.J.; JONES, C.M.; HEINRICHS, B.S. Effects of Mannan Oligosaccharide or Antibiotics in Neonatal Diets on Health and Growth of Dairy Calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, p. 4064-4069, 2003.

HEINRICHS, A.J.; KIERNAN, N.E.; GRAVES, R.E.; HUTCHINSON, L.J. Survey of calf and heifer management practices in Pennsylvania dairy herds. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.70, p. 896-904, 1987.

HICKEY, M.C.; DRENNAN, M.; EARLEY, D. The effect of abrupt weaning of suckeler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. **Journal of Animal Science.** Champaign, v.81, p. 2847-2855, 2003.

HIGGINBOTHAM, G.E.; BATH, D.L. Evaluation of Lactobacillus fermentation cultures in calf feedding systems. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.76, n.2, p. 615-620, 1993.

HOFFMAN, P.C.; FUNK, D.A. Applied dynamics of dairy replacement growth and management. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.75, p. 2504-2516, 1992.

HOKAMA, N.H.; MACHADO, P.E.A. Interpretação clínica do hemograma nas infecções. **Jornal Brasileiro de Medicina**. Rio de Janeiro, v.72, n.3, p. 38-49, 1997.

HOPKINS, B.A. Effects of the method of calf starter delivery and effects of weaning age on starter intake and growth of holstein calves fed milk once daily. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, p. 2200-2203, 1997.

HOLZAPFEL, W.; HABERER, P.; GEISEN, R.; BJÖRKROTH, J.;SCHILLINGER, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition, **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.73, p. 365S–373S, 2001.

ISOLAURI, E.; SÜTAS, Y.; KANKAANPÄÄ, P.; ARVILOMMI, H.; SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.73, p. 444-450, 2001.

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 248.

JASPER, J.; WEARY, D.M. Effects of *ad libitum* milk intake on dairy calves. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.85, p. 3054-3058, 2002.

JENNY, B.F.; VANDIJK, H.J.; COLLINS, J.A. Performance and fecal flora of calves fed a Bacillus subtilis concentrate. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.74, n.6, p. 1968-1973, 1991.

JEŽEK, J.; NEMEC, M.; STARIČ, J.; KLINKON, M. Age related chances and reference intervals of haematological variables in dairy calves. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy.** Pulawy, v.55, p. 471-478, 2011.

JIN, L. Z.; MARQUARDT, R. R.; BAIDOO, S. K. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, n.5, p. 619-624, 2000.

JONES, G.W.; RUTTER, J.M. Role of the K88 Antigen in the Pathogenesis of Neonatal Diarrhea Caused by *Escherichia coli* in Piglets. **Infection and immunity.** Washington, v.6, n.6, p. 918, 1972.

KAHN, C.M.; LINE, S. The Leukogram. In: **The Merck Veterinary Manual.** 9.ed. Whitehouse Station: Merck Sharp & Dohme Corp., 2011. Disponível em: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/10705.htm>. Acesso em: 25 fev. 2013.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: **Clinical biochemistry of domestic animals.** 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997, p. 117-138.

KERTZ, A. Composition of bovine colostrum variable. **Feedstuff Journal.** Mason City, v. 80, p. 10-11, 2008.

KIM, M.K.; LEE, H.G.; PARK, J.A.; KANG, S.K.; CHOI, Y.J. Effect of feeding direct-fed microbial as an alternative to antibiotics for the prophylaxis of calf diarrhea in Holstein calves. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** Korea, v.24, n.5, p. 643-649, 2011.

KREHBIEL, C.R.; RUST, S.R.; ZHANG, G.; GILILAND, S.E. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science.** Champaign, v.81, n.2, p. E120-E132, 2003.

KRISTENSEN, N.B.; SEHESTED, J.; JENSEN, S.K.; VESTERGAARD, M. Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed holstein calves. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.90, n.9, p. 4346-4355, 2007.

KUNG JR., L. Direct fed microbials and enzymes for ruminants. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 12., 2001. Gainesville. **Proceedings…** Gainesville: University of Florida, 2001. p.11-12

LARSON, B.L.; HEARY, H.L.; DEVERY, J.E. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.63, p. 665-671, 1980.

LARSON, L.L.; OWEN, F.G.; ALBRIGHT, J.L.; APPLEMAN, R.D.; LAMB, R.C.; MULLER, L.D. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.60, n.6, p. 989-991, 1977.

LEAL, M.L.R.; CYRILLO, F.C.; MORI, C.S.; MICHIMA, L.E.S.; NICHI, M.; ORTOLANI, E.L.; BENESI, F.J. Modelo de indução de diarreia osmótica em bezerros holandeses. **Ciência Rural.** Santa Maria, v.38, n.6, p. 1650-1657, 2008.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R.H. Probiotics: Growth-promoting Factors Produced by Microorganisms. **Science Magazine.** Lancaster, v.147, n.3659, p. 747-748, 1965.

LIMA, P.O.; MOURA, A.A.A.; QUEIROZ, M.G.R.; LIMA, R.N.; DUARTE, L.S.; MIRANDA, M.V.F.G. Concentrações séricas de glicose e ureia em bezerras mestiças alimentadas com sucedâneo lácteo e probiótico. **Acta Veterinária Brasílica.** Mossoró, v.6, n.2, p. 141-146, 2012.

LIMA, P.O.; CÂNDIDO, M.J.D.; QUEIROZ, M.G.R.; FERREIRA, J.M.; MODESTO, E.C.; LIMA, R.N.; GOMES, J.M.C.; AQUINO, R.M.S. Parâmetros séricos de bezerros submetidos a diferentes tipos de dietas líquidas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.** Salvador, v.13, n.2, p. 529-540, 2012.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. Hematologia. In: **Manual de Patologia Clínica Veterinária.** 3.ed. Santa Maria: UFMS/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007. p. 05-10.

LOERCH, S. C.; FLUHARTY, F. L. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, n.5, p. 1113-1119, 1999.

LUCA, G.C.; REIS, B.F. Espectrofotometria de proteínas totais em plasma de sangue bovino por análise em fluxo. **Scientia Agrícola.** Piracicaba, v.59, n.2, p. 251-256, 2001.

LUCCI, C.S. **Bovinos leiteiros jovens.** São Paulo: Nobel/Editora da USP, 1989. p. 371.

MACHADO, P.R.L.; ARAUJO, M.I.A.S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E.M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros de Dermatologia.** Rio de Janeiro, v.79, n.6, p. 647-664, 2004.

MAGALHÃES, J.A.; TAKIGAWA, R.M.; TAVARES, A.C.; TOWNSEND, C.R.; COSTA, N.L.; PEREIRA, R.G.A. Determinação da tolerância de bovinos e bubalinos ao calor do trópico úmido. In: Reunião Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p. 70-72.

MANTOVANI, H. C.; KAM, D. K.; HA, J. K.; RUSSEL, J. B. The antibacterial activity and sensitivity of Streptococcus bovis strains isolated from the rumen of cattle. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v.37, p. 223-239, 2001.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004**. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=133040692> Acesso em 24 de novembro de 2012.

MARTEL, C.A.; TITGEMEYER, E.C.; MAMEDOVA, L.K.; BRADFORD, B.J. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.94, p. 3995-4004, 2011.

MARTIN, S. A.; NISBET, D. J. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 6, p. 1736-1744, 1992.

MARTIN, W.G.; RAMSEY, H.A.; MALTRONE, G.; WISE, G.H. Responses of young calves to a diet containing salts of volatile fatty acids. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.42, p. 1377-1386, 1959.

MARTÍNEZ, A.C.; ALVAREZ-MON, M. O sistema imunológico (I): conceitos gerais, adaptação ao exercício físico e implicações clínicas. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte.** Niterói, v.5, n.3, p. 120-125, 1999.

METZGER JR., F.L.; REBAR, A. Three-minute peripheral blood film evaluation: the leukon. **American Journal of Veterinary Medicine.** Chicago, v.99, n.12, p. 14-16, 2004.

MEYER, P.M.; PIRES, A.V.; BAGALDO, A.R.; SIMAS, J.M.C.; SUSIN, I. Adição de probiótico ao leite integral ou sucedâneo e desempenho de bezerros da raça holandesa. **Scientia Agrícola.** Piracicaba, v.88, n.2, p. 215-221, 2001.

MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhea. **Revue de Médecine Veterinaire**. Toulouse, v.160, p. 404-409, 2009.

MOTTA, V. T. Aminoácidos e Proteínas. In: **Bioquímica Clínica:** Princípios e Interpretações. 5.ed. Rio de Janeiro: MEDBOOK, 2009. p. 63-70.

NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição.** Campinas, v.14, n.2, p. 119-124, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirement in dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academy of Science, 2001. p. 381.

NAYLOR, J.M.; ZELLO, G.A.; ABEYSEKARA, S. Advances in oral intravenous fluid therapy of calves with gastrointestinal disease. In: Word Buiatrics Congress, 24., 2006. **Anais…** Nice: Societé Française de Buiatrie, 2006. p. 139-150.

NETO, E.C.; ALVES, R.M.; SPIGOLON, Z.; FERREIRA, M.L.O. Linfócitos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária,** Garça, ano 7, n. 12, p. 17-25, 2009.

OLSON, E.J.; EPPERSON, W.B.; ZEMAN, D.H.; FAYER. R.; HILDRETH, M.B. Effects of an allicin-based product on cryptosporidiosis in neonatal calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** Schaumburg, v.212, p. 987–989, 1998.

ONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.** Philadelphia, v.23, n.3, p. 377-402, 2007.

PAES, P.R.O.; GONÇALVES, 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. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 305-312, 2012.

PENHA, L.A.C.; PARDO, P.E.; KRONKA, S.N.; REIS, L.S.L.S.; OBA.E.; BREMER-NETO, H. Effects of probiótico supplementation on liveweight gain and serum cortisol concentration in cattle. **Veterinary Record.** London, v.168, p. 538a, 2011.

PLACE, N.T.; HEINRICHS, A.J.; ERB, H.N. The effects of disease, management, and nutrition on average daily gain of dairy heifers from birth to four months. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.83, p. 1004-1009, 1998.

QUIGLEY, J.D.; CALDWEEL, L.A.; SINKS, G.D.; HEITMANN, R.N. Changes in blood glucose, nonesterified fatty acids, and ketones in response to weaning and feed intake in young calves. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.74, n.1, p. 250-257, 1991.

QUIGLEY, J.D.; MARTIN, K.R.; BEMIS, D.A.; POTGIETER, L.N.; REINEMEYER, C.R.; ROHRBACH, B.W.; DOWLEN, H.H.; LAMAR, K.C. Effects of housing and colostrum feeding on the prevalence of selected infectious organisms in feces of Jersey calves. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.77, p. 3124-3131, 1994.

QUINTERO-GONZALEZ, C.I.; COMERFORD, J.W.; VARGA, G.A. Effects of direct-fed microbials on growth, health, and blood parameters of young Holstein calves. **ARPAS The Professional Animal Scientist.** Champaign, v.19, p. 211-220, 2003.

RAETH-KNIGHT, M. L.; LINN, J. G.; JUNG, H. G. Effect of Direct-Fed Microbials on performance, diet digestibility, and rumen characteristics of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 90, p. 1802-1809, 2007.

RAVARY-PLUMIOËN, B. Resuscitation procedures and life support of the newborn calf. **Revue de Médecine Veterinaire**. Toulose, v.160, n.8-9, p. 410-419, 2009.

RINCKER, L.E.D.; VANDEHAAR, M.J.; WOLF, C.A.; LIESMAN, J.S.; CHAPIN, L.T.; NIELSEN, M.S.W. Effect of intensified feeding of heifer calves on growth, pubertal age, calving age, milk yield, and economics. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.94, n.7, p. 3554-3567, 2011.

ROCHA, A.L.M.; DALLMANN, H.M.; MENEZES, L.M.; FERRARI, A.W.; NIEDERMEYER, F.; CAVALHEIRO, R.; GÖTZE, M.M.; SILVA, S.S. Avaliação da influência de fatores etários e produtivos sobre parâmetros hematológicos de bovinos leiteiros no rio grande do sul. In: **XVII Congresso de Iniciação Científica**, Pelotas, 2008.

ROCHA, T.G.; FRANCIOSI, C.; NOCITI, R.P.; NOGUEIRA, C.A.S.; FAGLIARI, J.J. Hemograma e proteínas do soro sanguíneo de bezerros Canchim-Nelore e da raça Holandesa nos primeiros 30 dias de vida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** Belo Horizonte, v.62, n.5, p. 1250-1254, 2010.

ROGERS, L.A. The inhibiting effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus.* Research Laboratories, Bureau of Dairy Industry, **Journal of Bacteriology.** Washington, v.16, n.5, p. 321–325, 1928.

ROY, J.H.B. **The Calf**: Management of health. Butterworths Publisher. London, England, 1990. p. 1.

RUSSEL, J. B.; MANTOVANI, H. C. The bacteriocins of ruminal bacteria and their potential as an alternative antibiotics. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, San Diego, v.4, p. 347-355, 2002.

SALMINEN, S.; ISOLAURI, E.; SALIMEN, E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 70, p. 347-358, 1996.

SAXELIN, M.; TYNKKYNEN, S.; MATTILA-SANDHOLM, T.; VOS, W. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.16, p. 1-8, 2005.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes.** Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 423-424.

SAVAGE, D. C.Microbial ecology of the gastrointestinal tract. **Annual Review of Microbiology.** Palo Alto, v.31, p. 107-133, 1977.

SCHULZ, D.; PEREIRA, M.A.; BONELLI, R.R.; NUNES, M.M.; BATISTA, C.R.V. Bacteriocinas: mecanismos de ação e uso na conservação de alimentos. **Alimentos e Nutrição.** Araraquara, v.14, n.2, p. 229-235, 2003.

SEO, J.K.; KIM, S.W.; KIM, M.H.; UPADHAYA, S.D.; KAM, D.K.; HA, J.K. Direct-fed Microbials for Ruminants Animals. **Asian-Australasian Journal of Animal Science.** Koreak v.23, n.12, p. 1657-1667, 2010.

SILVA, R.G. **Introdução à bioclimatologia animal.** São Paulo: NOBEL, 2000. 286 p.

SILVA, J.T.; BITTAR, C.M.M.; FERREIRA, L.S. Desempenho e desenvolvimento ruminal em resposta ao fornecimento de substâncias húmicas para bezerros leiteiros em sistema de desaleitamento precoce. Acta Scientiarum. **Animal Sciences**. Maringá, v. 33, n.4, p. 395-401, 2011.

SNODGRASS, D.R.; TERZOLO, H.R.; SHERWOOD, D. Aetiology of diarrhea in young calves. **Veterinary Record**. London, v.119, p.31-34, 1986.

SOLIMAN, M.K.; ZAKI, K. Blood picture of Friesian heifers from birth till maturity. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A**, Berlin, v.13, p.467-473, 1966.

STEIN, D. R.; ALLEN, D. T.; PERRY, E. B.; BRUNER, J. C.; GATES, K. W.; REHBERGER, T. G.; MERTZ, K.; JONES, D.; SPICER L. J. Effects of feeding propionibacteria to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 111-125, 2006.

STOLTENOW, C.L.; VINCENT, L.L. **Calf scours:** causes, prevention, treatment. Fargo: Fargo Press, Noth Dakota State University, 2003. p. 300-303.

STULL, C.L.; MESSAM, L.L.M.; COLLAR, C.A.; PETERSON, N.G.; CASTILLO, A.R.; REED, B.A.; ANDERSEN, K.L.; VERBOORT, W.R. Precipitation and temperature effects on mortality and lactation parameters of dairy cattle in California. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.91, n.12, p. 4579-4591, 2008.

SWEENEY, B.C.; RUSHEN, J.; WEARY, D.M.; PASSILLÉ, M. Duration of weaning, starter intake, anda weight gain of dairy calves fed large amounts of milk. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.93, p. 148-152, 2010.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Fisiologia dos animais domésticos.** 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 856.

THOM, E. C. The discomfort index. **Weatherwise**, Boston, v. 12, n. 2, p. 57-60, 1959.

TIMMERMAN, H.M.; MULDER, L.; EVERTS, H.; VAN ESPEN, D.C.; VAN DER WAL, E.; KLAASSEN, G.; ROUWERS, S.M.G.; HARTEMINK, R.; ROMBOUTS, F.M.; BEYNEN, A.C. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. **Journal of Dairy Science.** Champaign, v.88, n.6, p. 2154-2165, 2005.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária**. 3 ed. Editora Roca, São Paulo, SP, Brasil, 1998. p. 1-26.

TOURNUT, J.; ANADON, A.; RAYNAUD, J.P. Prevention of enterotis in calves with probiotics / microbial bioregulators. Rationale and targets. In: **CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA**, 15, 1988. Palma de Mallorca, v.1, p. 390-394, 1988.

TOZER, P.R.; HEINRICHS, A.J. What affects the cost of raising replacement dairy heifers: a multiple-component analysis. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.84, p. 1836-1844, 2001.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Part I: Reference of dairy cattle health and management practices in the United States, 2007. **USDA-APHIS-VC.** Fort Collins, 2007. p. 53.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Changes in the U.S. Dairy Cattle Industry, 1991–2007. **Dairy 2007**, 2007. p. 1-2.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Cattle and calves nonpredator death loss in the United States, 2010.** Fort Collins:, 2011. p. 11.18.

WALTNER-TOEWS, S.W.; MARTIN, S.W., MEEK, A.H. The effect of early calfhood health status on survivorship and age at first calving. **Canadian Journal of Veterinary Research**. Ottawa, v.50, p. 314-317, 1986.

WILLETT, G.S. **The economics of home-grown versus custom-raised dairy replacement heifers**. Pullman: Washington State University, 1990. p. 09.

WINTER, K.A. Comparative performance and digestibility in dairy calves weaned at three, five and seven weeks of age. **Canadian Journal of Animal Science**. Ottawa, v.65, p. 445-450, 1985.