

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ADMINISTRAÇÃO DE COLOSTRO AO BEZERRO
NEONATO E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE
PROTEÍNA TOTAL E IMUNOGLOBULINA G

Fernanda de Castro Rodrigues

Médica Veterinária

UBERLÂNDIA - MINAS GERAIS – BRASIL

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**ADMINISTRAÇÃO DE COLOSTRO AO BEZERRO
NEONATO E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE
PROTEÍNA TOTAL E IMUNOGLOBULINA G**

Fernanda de Castro Rodrigues

Orientador: Prof. Dr. Edmundo Benedetti

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia - UFU,
como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre
em Ciências Veterinárias
(Produção Animal)

Uberlândia – MG

Agosto de 2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R618a Rodrigues, Fernanda de Castro, 1988-
2012 Administração de colostro ao bezerro neonato e as concentrações
 séricas de proteína total e imunoglobulina G / Fernanda de Castro Ro-
 drigues. -- 2012.
 58 f. : il.

 Orientador: Edmundo Benedetti.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pro-
 grama de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
 Inclui bibliografia.

 1. Veterinária - Teses. 2. Imunologia veterinária - Teses. 3. Bovi-
 no - Imunologia - Teses. 4. Bezerro - Imunologia - Teses. I. Bene-
 detti, Edmundo. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de
 Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.
 1.

CDU: 619

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FERNANDA DE CASTRO RODRIGUES – Silvânia, GO, 01 de Junho de 1988. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade de Brasília em Fevereiro de 2011.

Ao longo dos anos, quanto pude aprender!

Vocês são quem despertam minha sensibilidade para os valores fundamentais da vida, onde quer que ela se manifeste.

De quanta coisa me arrependo!

Na ciência, somos levados a posturas equivocadas, de “frieza profissional”.

Quanta bobagem, quanta omissão!

Quanto sofrimento impingimos a esses pobres seres que se amontoam nos laboratórios, a mercê de tudo e de todos.

E a gente, na “santa” ignorância, vai entrando no esquema...

Felizmente, todo sono tem seu despertar e hoje é bem acordada que peço perdão a todos os animais que prejudiquei ou não pude ajudar.

Felizmente, também a vida me colocou no contato com eles, em oportunidade de aprendizado para enxergar a beleza da criação e respeitar a todos.

E para nós, enquanto humanidade, que histórica e egocentricamente sempre nos colocamos como seres excelsos, a quem tudo o mais da natureza devia se curvar e servir, abre-se a maravilhosa compreensão de que somos parte integrante desse imenso Universo, rede cósmica de interligações que comprometem as menores partículas, inclusive as de que somos formados.

Não estamos mais sozinhos no topo da pirâmide aristotélica, pois entendemos, agora, nossa participação no todo e a do todo em nós. Somos hoje yin e yang, razão e intuição. Cultivamos a Ciência e queremos merecer a Poesia. Afinal, como já ouvi de nosso querido confrade Hermínio C. Miranda, a Ciência é para os que estão aprendendo e, a Poesia, para os que já sabem.

Um dia chegaremos lá!

(Irvénia Prada)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer pelo auxílio, pelos momentos divertidos e pela amizade da Laura Marques Knychala e do Vinícius de Moraes Barbosa, sem vocês não seria possível realizar esse experimento; gostaria de agradecer ao meu orientador Edmundo Benedetti, excelente profissional e excelente pessoa, por ter aceitado me orientar de última hora.

Ao proprietário da fazenda Barreiro, Rogério Santana, por ter permitido a realização do experimento em sua fazenda e à todos os funcionários, muito obrigada!

Agradeço aos professores pelas sugestões no experimento: Anna Monteiro Correia Lima, Antonio Vicente Mundim, Tiago Wilson Patriarca Mineo. Aos professores que aceitaram participar da banca de Dissertação: Antonio Vicente Mundim, Tiago Wilson Patriarca Mineo, Joely Ferreira Figueiredo Bittar, Wanderson Adriano Biscola Pereira. Agradeço à professora Natascha Almeida Marques da Silva, pelas correções e sugestões na análise estatística do experimento. Agradeço à todos do laboratório de doenças infecciosas, onde foi feito o teste de imunodifusão radial e à todos do laboratório de biotecnologia, onde foram preparados os tubos com solução de glutaraldeído 10% para a realização do teste de coagulação em glutaraldeído.

Agradeço aos amigos que conheci em Uberlândia e que indiretamente ajudaram nessa etapa da minha vida: Flávia Soares, Vanessa Vieira, Jéssica Pazeta, Samara Pazeta, Sílvia Santos e Nayane Peixoto.

Agradeço aos meus pais, Hilma Maria de Castro Rodrigues e Antônio Jeová Rodrigues, ao meu irmão, Maciel de Castro Rodrigues, aos demais familiares, aos meus amigos que não moram em Uberlândia, Kerly Aline Lobo, Shérly Lobo, Virgínia Pineze, Bruna Pineze, Maria Anita Rodrigues Lobo, Bianca Ilha, Fernando Botelho, Laís Luzia Guerra, Rita Oliveira Alboyadjian. Vocês são muito importantes na minha vida!

À Capes pelo apoio financeiro.

À todos aqueles que me ajudaram e que não citei por não me lembrar no momento que escrevi os agradecimentos, muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
Lista de Abreviaturas.....	viii
Resumo.....	ix
Summary.....	x
I. INTRODUÇÃO.....	11
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
II.I Imunidade no feto, no recém-nascido e importância do colostro.....	13
II.II Composição do colostro.....	15
II.III Processos de conservação do colostro.....	17
II.IV Efeitos do momento da ingestão de colostro.....	18
II.V Método e volume do fornecimento de colostro.....	20
II.VI Influência da ordem de parto na qualidade do colostro.....	21
II.VII Influência da raça da mãe na qualidade do colostro.....	22
II.VIII Influência da presença da mãe na absorção de colostro.....	23
II.IX Comportamento do bezerro recém-nascido.....	24
II.X Influência dos distúrbios metabólicos na absorção de imunoglobulinas do colostro.....	24
II.XI Influência do tipo de parto na absorção de imunoglobulinas.....	25
II.XII Influência da vacinação da mãe na qualidade do colostro.....	25
II.XIII Influência do uso de corticoesteróides na mãe sobre a transferência de imunidade passiva.....	26
II.XIV Testes utilizados para verificar a qualidade do colostro.....	26
II.XIV.I Avaliação da densidade do colostro.....	26
II.XIV.II Quantificação da IgG no colostro por meio de imunodifusão radial simples.....	27
II.XV Testes utilizados para verificar o “status” de transferência passiva de imunidade.....	28
II.XV.I Concentração sérica de proteína total (PT) por refratometria.....	28
II.XV.II Teste de precipitação em solução de sulfato de sódio.....	30
II.XV.III Teste de turbidez em solução de sulfato de zinco.....	31
II.XV.IV Enzyme linked immunosorbent assay – ELISA.....	31
II.XV.V Teste de coagulação em glutaraldeído.....	32

II.XV.VI	Atividade da enzima gamaglutamiltransferase (GGT).....	33
II.XV.VII	Imunodifusão radial simples.....	34
II.XV.VIII	Fracionamento eletroforético.....	34
II.XVII	Tratamento da FTIP.....	35
III.	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
III.I	Animais e manejo do rebanho.....	36
III.II	Delineamento experimental.....	38
III.III	Análises laboratoriais.....	39
III.IV	Análise estatística.....	40
IV.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
V.	CONCLUSÕES.....	48
VI.	REFERÊNCIAS.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

BVD - diarréia viral bovina

d - distância de migração da molécula a ser analisada

D - distância de migração da linha de frente do padrão da corrida

ELISA - enzyme linked immunosorbent assay

FTIP - falha de transferência de imunidade passiva

GGT - gamaglutamiltransferase

HCO₃ – bicarbonato

IBR - rinotraqueíte infecciosa bovina

Ig - Imunoglobulina

IgA - Imunoglobulina A

IgG - Imunoglobulina G

IgG1- Imunoglobulina G subclasse 1

IgG2 - Imunoglobulina G subclasse 2

IgM - Imunoglobulina M

Mr - mobilidade relativa

NRC – national research council

PI3 - parainfluenza bovina do tipo 3

P_{CO2} - pressão parcial de gás carbônico

pH - potencial hidrogeniônico

PM - peso molecular

PPT - proteína plasmática total

PT - proteína total

SDS - dodecil sulfato de sódio

SDS-PAGE - gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio

ZnSO₄ . 7 H₂O - sulfato de zinco heptahidratado

ADMINISTRAÇÃO DE COLOSTRO AO BEZERRO NEONATO E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE PROTEÍNA TOTAL E IMUNOGLOBULINA G

RESUMO: Foram realizados quatro tratamentos: tratamento 1: desde o nascimento e até nas primeiras 48 horas de vida, o bezerro mamou na própria mãe, nas quatro tetas, sendo um pouco em cada teta *ad libitum*; tratamento 2: desde o nascimento e até nas primeiras 48 horas de vida, o bezerro mamou apenas na teta anterior direita *ad libitum*; tratamento 3: desde o nascimento e até nas primeiras 48 horas de vida, todas as tetas foram ordenhadas e o colostro foi fornecido ao bezerro em mamadeira; tratamento 4: desde o nascimento e até nas primeiras 48 horas de vida, todas as tetas foram ordenhadas e um sucedâneo foi fornecido ao bezerro em mamadeira. Foi mensurada a concentração de imunoglobulina G (IgG) de amostras de sangue de 21 bezerros, colhidas às 48 horas de vida. Os testes utilizados para mensurar a concentração de IgG foram: imunodifusão radial, refratometria e coagulação por glutaraldeído. A densidade do colostro fornecido aos animais foi mensurada com lactodensímetro. Nos animais submetidos ao tratamento 3, foi detectada maior transferência IgG que naqueles submetidos aos tratamentos 1 e 2 que, por sua vez, apresentaram maior aquisição de imunidade passiva que os animais do tratamento 4. Não houve diferença significativa entre as respostas mensuradas nos tratamentos 1 e 2. Foi detectada alta correlação entre os resultados obtidos no teste de refratometria ($r = 0,90$) e os obtidos no teste de imunodifusão radial e houve coagulação em solução de glutaraldeído de todos os soros com concentração de IgG maior que 983,68 mg/dL.

Palavras-chave: anticorpo, bovino, gamaglobulina, imunidade passiva, recém-nascido

**ADMINISTRATION OF COLOSTRUM TO THE NEWBORN CALF AND THE
SERUM CONCENTRATION OF TOTAL PROTEIN
AND IMMUNOGLOBULIN G**

SUMMARY: Four treatments were performed: treatment 1: from birth until the first 48 hours after birth, the calf sucked *ad libitum* on her mother, the four teats, being a little in each teat ; treatment 2: from birth until the first 48 hours after birth, the calf suckled *ad libitum* on the right front teat; treatment 3: from birth until the first 48 hours of life, all teats were milked and the calf was provided colostrum by bottle; treatment 4: from birth until the first 48 hours of life, all teats were milked and milk replacer was fed to calves by bottle. We measured the concentration of Immunoglobulin G (IgG) in the blood of 21 calves harvested at 48 hours of life. The density of colostrum fed to the animals was measured with a hydrometer . In animals subjected to treatment 3, was detected higher transfer of IgG than those of treatments 1 and 2 which in turn showed acquisition of immunity to the animals of treatment 4. There was no significant difference between the responses measured in treatments 1 and 2. We have detected a high correlation between the results obtained in the test of refraction and the obtained in radial immunodiffusion test ($r = 0,90$) and there was coagulation solution of glutaraldehyde in all sera IgG concentration higher than 983,68 mg/dL.

Keywords: antibody, bovine, gammaglobulin, passive immunity, newborn

I. INTRODUÇÃO

Na atividade pecuária, a mortandade dos bezerros recém-nascidos tem sido uma das mais relevantes causas de perdas econômicas (FAGLIARI et al., 1998), sendo considerada por Frois et al. (1994) um dos principais pontos de estrangulamento da atividade pecuária. As taxas de morbidez podem comprometer futuros estágios do desenvolvimento animal. Vários fatores estão relacionados a tais taxas, como: práticas de manejo da vaca gestante e do bezerro recém-nascido (MACHADO NETO et al., 2004a).

Roy (1990) citado por Machado Neto et al. (2004a), considera normal índices de mortalidade de até 5% entre o nascimento e os três primeiros meses de vida dos bezerros. Em trabalhos realizados na América do Norte estima-se que a mortalidade de bezerros neonatos varia entre 6,5 a 22% (OXENDER et al., 1973; SARGEANT et al., 1994; NIX et al., 1998 citados por MACHADO NETO et al., 2004a).

Em trabalho realizado por Frois et al. (1994), em Minas Gerais, foi encontrada taxa de mortalidade de 14,9%. Ele atribuiu esse valor à alimentação inadequada, falhas no manejo e à problemas sanitários.

Apesar dos fetos bovinos serem imunologicamente competentes para responder à uma grande variedade de antígenos, o ambiente uterino onde esse feto se encontra não é capaz de estimular uma resposta imunológica (PENHALE et al., 1970 citado por McGUIRE et al., 1976). A placenta das vacas é do tipo epitélio-corial segundo Quiroz-Rocha e Bouda (2010). Já que a placenta dos bovinos, sendo desse tipo, impede a transferência de imunoglobulinas da mãe para o feto, a transferência de imunidade passiva pelo colostro é essencial para a sobrevivência dos bezerros (SILPER et al., 2012).

De acordo com Brambell (1958) citado por Bessi et al. (2002), no bezerro neonato, os níveis de anticorpos na circulação sanguínea são insignificantes e insuficientes para a sobrevivência e higidez do mesmo nas primeiras semanas de vida, sendo necessária a transferência de imunidade materna pelo do colostro.

O colostro é rico em anticorpos que são absorvidos intactos e funcionais pelas células epiteliais do intestino delgado do bezerro (BRAMBELL, 1958 citado por BESSI et al, 2002). Esse alimento caracteriza-se por uma secreção viscosa da glândula mamária produzida imediatamente após o parto por um período de três a

seis dias. É composto por 20% de proteína, 18,5% de sólidos não-gordurosos, rico em açúcares, minerais e vitaminas. Possui uma fração elevada de imunoglobulinas nas primeiras e segundas ordenhas, caracterizando seu alto efeito imunológico, os teores de imunoglobulinas decrescem com o passar das horas: no momento do parto é possível encontrar teores com cerca de 32,4 mg/mL de imunoglobulinas, 25,4 mg/mL 12 horas após e 15,4 mg/mL após 24 horas. Portanto, o colostro obtido a partir da terceira ordenha poderia não ter anticorpos suficientes para garantir uma boa imunização (OLIVEIRA et al., 2005). Estes mesmos autores observaram que a capacidade de absorção de anticorpos no intestino dos bezerros vai sendo progressivamente reduzida após as primeiras 12 horas de vida. A partir disso, segundo os autores, nota-se a importância de fazer com que os bezerros recém-nascidos ingiram o colostro o mais rapidamente possível após o nascimento. O momento da ingestão, a qualidade e a quantidade do colostro são aspectos decisivos para que o neonato adquira quantidade suficiente de imunoglobulinas (LUCCI, 1989; BORGES, 1997; PERINO, 1997 citado por BORGES et al., 2001). Segundo Stott et al. (1979a), provavelmente, o colostro ordenhado da cisterna da teta e da cisterna da glândula, o primeiro colostro disponibilizado para o bezerro, é muito mais concentrado em imunoglobulinas que o colostro do tecido alveolar e dos ductos menores e maiores, no entanto, há controvérsias. Besser et al. (1991) apontam como polêmica a discussão quanto ao fornecimento de colostro na mamadeira, sendo que trabalhos mais recentes apresentam recomendações favoráveis ao fornecimento de colostro na mamadeira e até por meio de sondas esofágicas (BESSER et al., 1991).

O diagnóstico da falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) é essencial para direcionar tratamento adequado aos bezerros e permite ainda monitorar se o manejo adotado para fornecimento do colostro está adequado. No entanto, é preciso que esse diagnóstico seja de fácil execução e de baixo custo.

O objetivo foi avaliar a influência do manejo no fornecimento de colostro ao bezerro neonato sobre a aquisição da imunidade passiva, uma vez que a concentração de imunoglobulinas pode ser diferente nas diferentes frações de colostro ingeridas e que o aleitamento artificial pode interferir na FTIP. Comparar três testes para detecção da FTIP: imunodifusão radial, coagulação do soro pelo glutaraldeído e concentração de proteína sérica total por refratometria.

A hipótese é que bezerros que receberão o colostro na mamadeira terão maior quantidade de anticorpos do que os bezerros que mamarão nas quatro tetas de suas mães e bezerros que mamarão nas quatro tetas de suas mães receberão mais anticorpos do que os bezerros que mamarão em apenas uma teta de suas mães. Espera-se também que os bezerros que mamarão apenas sucedâneo nas primeiras 48 horas de vida não receberão imunidade passiva.

Ainda espera-se que os testes utilizados para diagnóstico de FTIP não proporcionarão resultados muito diferentes entre eles.

II. REVISÃO DE LITERATURA

II.1 Imunidade no feto, no recém-nascido e importância do colostro

O sistema imune do bezerro desenvolve-se muito cedo na vida fetal. Embora o período de gestação da vaca seja, aproximadamente, 280 dias, o timo fetal é reconhecível em torno de 40 dias após a concepção. A medula óssea e o baço surgem aos 55 dias e os gânglios linfáticos são encontrados aos 60 dias, mas as placas de Peyer não aparecem antes dos 75 dias de gestação. Assim, esses animais são susceptíveis a doenças infecciosas não devido a qualquer incapacidade para armar uma resposta imunológica, mas devido ao estado não estimulado de seu sistema de defesa. Qualquer resposta imune de um animal recém-nascido deve necessariamente ser uma resposta primária com um período de aparecimento relativamente prolongado e com produção de concentrações baixas de anticorpos (TIZARD, 2004).

A placenta da vaca é denominada epitélio-corial e impede a transferência de imunoglobulinas da mãe para o feto (SILPER et al., 2012). Assim, somente pelo colostro ingerido após o nascimento é que o recém-nascido irá receber a proteção necessária contra infecções até que o seu sistema imunológico se desenvolva e seja capaz de promover a formação de suas próprias defesas (OLIVEIRA et al., 2005). Portanto, como o neonato necessita de um maior tempo para responder a desafios externos utilizando anticorpos endógenos, os anticorpos de origem materna transferidos pelo colostro são essenciais à sua sobrevivência (EDWARDS et al., 1982 citado por FEITOSA et al., 2006).

Machado Neto e Packer (1986) ressaltaram que a ingestão de colostro pelo bezerro também é capaz de interferir negativamente na resposta imunológica do mesmo. Após o pico de concentração de imunoglobulina, 24 a 48 horas, ocorre um declínio devido ao catabolismo das imunoglobulinas adquiridas passivamente seguido por aumento gradativo devido ao início da produção endógena de anticorpos (MACHADO NETO; PACKER, 1986). O anticorpo materno obtido passivamente, de acordo com Tizard (2004), não só inibe a síntese de imunoglobulinas de recém-nascidos, mas também impede o sucesso da vacinação em animais jovens. O período refratário pode persistir durante muitos meses, e sua extensão depende da quantidade de anticorpos transferidos e da meia-vida das imunoglobulinas envolvidas (FEITOSA et al., 2003; TIZARD, 2004).

O aumento da mortalidade neonatal devido a FTIP é uma consequência amplamente aceita (WEAVER et al., 2000). Em trabalho realizado por Wittum e Perino (1995), amostras de sangue foram colhidas de 263 bezerros 24 horas após o parto para a determinação da proteína sérica total e dos níveis de IgG. A concentração de IgG sérica, segundo os autores, foi classificada como adequada (> 1600 mg/dL), marginal (800 a 1600 mg/dL) e inadequada (< 800 mg/dL). A concentração de proteína sérica total foi classificada como adequada ($\geq 4,8$ g/dL) e inadequada ($< 4,8$ g/dL). Observaram 3% de mortalidade e 19,8% de morbidade antes do desmame e 9,9% de morbidade neonatal. Desses animais, 25% foram classificados como tendo concentrações séricas de IgG inadequada apresentando morbidade no período neonatal; houve morbidade em apenas 5% dos animais da mesma idade que apresentavam concentração sérica de IgG adequada. Os autores ressaltam ainda que, da mesma forma que bezerros com FTIP tiveram maior risco de morbidade e mortalidade antes do desmame, animais com concentração de proteína sérica total inadequada apresentaram maior taxa de morbidade quando comparado com aqueles com concentração de proteína sérica total adequada.

Os potenciais efeitos da FTIP a longo prazo têm sido ignorados (WEAVER et al., 2000). Robison et al. (1988) demonstrou que a concentração de imunoglobulina sérica de 24 a 48 horas de vida foi fonte de variação significativa que afetou o ganho de peso diário nos primeiros 180 dias de vida. Segundo Nocek et al. (1984), bezerros que receberam colostro com alta concentração de imunoglobulinas mantiveram seu peso aos quatro dias de vida ($P < 0,01$) maior que aqueles dos bezerros alimentados com colostro com baixa concentração de imunoglobulinas;

além disso, foram os únicos que ganharam peso durante os primeiros quatro dias de vida. No entanto, verificaram que o fornecimento de colostro de alta qualidade não causou vantagem ($P>0,10$) no ganho de peso de bezerros de cinco a 11 dias nem em bezerros de cinco a 45 dias de vida (NOCEK et al., 1984).

Em outro estudo, realizado por DeNise et al. (1989), avaliando relações entre imunoglobulina sérica total, medida logo após o nascimento, a idade ao primeiro parto, a produção de leite e a porcentagem de gordura na primeira lactação, observou-se que há influência na produção de leite e na porcentagem de gordura do leite. Segundo os autores, os bezerros que recebem e absorvem quantidade adequada de Ig quando nascem e têm uma proteção adequada contra patógenos podem desenvolver um sistema metabólico mais eficiente que contribui para o crescimento e para a produção.

II.II Composição do colostro

O colostro, de acordo com Scuch (2007), é formado por substâncias produzidas na glândula mamária, além de muitos constituintes do soro sanguíneo, que alcançam a glândula mamária. A transferência de grande quantidade de IgG e imunoglobulina G subclasse 1 (IgG1), especificamente, ocorre através da corrente sanguínea para o colostro e para o leite. A imunoglobulina predominante no colostro de todos os animais domésticos é a IgG (LARSON et al., 1980; TIZARD, 2004; KEHOE et al., 2007). O colostro bovino também contém menor quantidade de imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina M (IgM) produzidas localmente (LARSON et al., 1980). A infusão de antígeno na glândula mamária algumas semanas antes do parto, de acordo com Lascelles (1979), induziu a produção de anticorpos, sendo a maioria IgA e IgM. A transfusão inicial de IgG do colostro é necessária para a proteção de animais jovens contra doenças septicêmicas. A absorção contínua de IgA pelo intestino é necessária para a proteção contra doenças entéricas. O não funcionamento de qualquer um desses processos predispõe os animais jovens à infecção (TIZARD, 2004). Esses mesmos autores citam que, nos ruminantes, o intestino não é seletivamente permeável e todas as imunoglobulinas são absorvidas, embora a IgA seja gradualmente reescretada.

Blum e Hammon (2000) ressaltam que o colostro contém ainda aminoácidos essenciais e não essenciais, ácidos graxos, lactose, vitaminas e minerais, além das

substâncias que não são nutrientes, como as imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento, citocinas, lactoferrina, nucleotídeos, poliaminas e enzimas. Além disso, quando comparado ao leite, o colostro possui alta contagem de células somáticas, inclusive leucócitos.

O colostro bovino contém também até um milhão de linfócitos/cm³ e cerca de metade são células T. Estes linfócitos do leite podem estar presentes até 36 horas no intestino do bezerro e é possível que eles penetrem na parede intestinal e atinjam o fígado. Assim, a sensibilidade à tuberculina, reação de hipersensibilidade mediada por células, pode ser transferida a bezerros por vacas com reações positivas a tuberculina (TIZARD, 2004).

Segundo Parrish et al. (1950), o teor de sólidos do colostro diminui rapidamente durante o período de transição (Tabela 1), no qual a vaca deixa de produzir colostro e passa a produzir leite de forma gradual e, conseqüentemente, a densidade se modifica da mesma forma, já que está relacionada ao teor de sólidos (PARRISH et al., 1950). Muito ainda precisa se estudar sobre o transporte de imunoglobulinas através da barreira mamária. A baixa concentração de imunoglobulinas no leite bovino e a refratariedade da glândula mamária à estimulação local ainda não são muito bem conhecidas (LARSON et al., 1980; BAUMRUCKER et al., 2010).

Tabela 1. Composição do colostro comparado ao leite

Item	Colostro - Dia 1	Colostro - Dia 2	Leite
Sólidos totais, %	21,0	13,0	12,9
Gordura, %	6,3	4,3	4,0
Proteína, %	11,4	4,1	4,0
Lactose, %	3,3	4,7	5,0
Minerais, %	1,03	0,81	0,74
Imunoglobulinas, %	5,1	1,0	0,9
Vitamina A, µg/g gordura	240	74	34
Vitamina E, µg/g gordura	80	31	15
Vitamina B ₁₂ , µg/100mL	4,9	2,4	0,6

Fonte: Foley e Otterby (1978) modificado por Bolzan et al., 2010.

II.III Processos de conservação do colostro

O colostro bovino confere imunidade passiva para os bezerros recém-nascidos durante as primeiras 24 horas de vida e geralmente é fornecido durante os primeiros três dias após o nascimento. O colostro excedente não pode ser comercializado e é produzido em quantidade suficiente para alimentar um bezerro por cerca de 28-35 dias. Sendo assim, o colostro pode ser conservado, para ser usado depois, por meio de refrigeração, congelamento ou simplesmente armazenamento em temperatura ambiente, quando há fermentação ou tratamento químico. Enquanto no congelamento não se observa perdas de nutrientes, na fermentação ocorrem mudanças nas características físicas, perdas de nutrientes e, ocasionalmente, problemas de aceitabilidade pelos bezerros (FOLEY; OTTERBY, 1978).

Apesar dessas características, segundo Saalfeld et al. (2011), a silagem de colostro é um substituto adequado para o leite e soluciona problemas relatados na literatura, como armazenamento e período de uso. Os dados de SAALFELD et al. (2011) corroboram os de Mancio et al. (2005), ao verificar que os bezerros submetidos aos dois tipos de dieta líquida, colostro fermentado e leite integral, apresentaram taxa de crescimento constante e semelhante, demonstrando que o colostro fermentado é capaz de promover ganhos de peso da mesma magnitude que o leite integral.

De acordo com Foley Otterby (1978), bezerros absorvem menor quantidade de imunoglobulinas do colostro fermentado, no entanto, as imunoglobulinas não são quebradas durante o armazenamento sob temperatura ambiente. Eles citam que a disponibilidade das imunoglobulinas é afetada pelo pH e, possivelmente, devido a outros fatores associados à fermentação que ainda não foram identificados.

O colostro da mãe pode não ser disponibilizado para o bezerro por vários motivos, incluindo morte, hipocalcemia ou produção inadequada (JONES et al., 1987). Devery-Pocius e Larson (1983) mostraram que a idade e o número de lactações estavam relacionados com a quantidade de imunoglobulinas no colostro, sendo que vacas na primeira lactação produzem menos IgG1, IgG2 e IgM; Portanto o congelamento do colostro excedente pode ser útil nessas ocasiões.

Em experimento realizado por Jones et al. (1987), alíquotas de um litro de “pool” de colostro foram congeladas sob temperatura de -20°C e distribuídas, ao

acaso, em três tratamentos. O colostro foi descongelado usando um dos três métodos: 10 minutos em microondas na potência máxima (650 W), 17 minutos em microondas na potência média (325 W) e 25 minutos em banho maria em água a 45°C. Os autores verificaram que as concentrações de IgA foram maiores quando se procedeu o descongelamento em banho-maria e que a atividade imunológica encontrada foi menor para os tratamentos realizados em microondas.

Johnson et al. (2007) mostraram que o tratamento do colostro a 60° C por 60 minutos resultou em menor concentração de bactérias enquanto a concentração de IgG foi mantida. Eles citam que bezerros alimentados com esse colostro termicamente tratado tiveram concentração de proteína sérica e IgG significativamente maior nas 24 horas de vida quando comparados com bezerros alimentados com colostro não submetido ao tratamento térmico. Em trabalho realizado por Dominguez et al. (1997), não se constatou perda da atividade de ligação da IgG ao antígeno após 60 minutos de incubação a 65°C, mas temperaturas entre 69 e 81°C foram capazes de alterar a atividade dessa classe de imunoglobulina.

Alternativas para conservar o colostro foram estudadas por Mokhber Dezfouli et al. (2007), nesse experimento foi testado o colostro “spray-dried” e o colostro liofilizado. Bezerros que receberam colostro liofilizado tiveram uma incidência menor de diarreias, quando comparados com aqueles que receberam apenas leite integral; os bezerros que receberam colostro liofilizado até 24 horas após o nascimento apresentaram menor incidência de diarreias do que animais alimentados até 48 horas ou em até 72 horas. Os autores constataram que o colostro “spray-dried” não teve o mesmo efeito que o alimento liofilizado.

II.IV Efeitos do momento da ingestão de colostro

Gay et al. (1994) citado por Machado Neto et al. (2004a), constataram que um dos fatores mais importantes que afetam o nível sérico de imunoglobulinas dos bezerros é o tempo decorrido entre o parto e a primeira ingestão de colostro. Os autores citam que a parede intestinal dos bezerros é muito permeável nas primeiras horas de vida e, assim, os agentes causadores de doenças podem ser absorvidos com a mesma facilidade que as imunoglobulinas. Portanto, segundo eles, a ingestão de colostro deve ser o quanto antes e o modo como o colostro é oferecido,

seja na própria mãe, na mamadeira, no balde ou por meio de sonda esofagiana, influencia na transferência de imunidade passiva.

O fechamento da permeabilidade do intestino às imunoglobulinas, no bezerro, ocorre espontaneamente com a idade e há aumento progressivo depois das 12 horas pós-parto (STOTT et al., 1979b). Segundo os mesmos autores, geralmente, o fechamento ocorre por volta de 24 horas pós-parto, quando os bezerros não são alimentados. Segundo Schuch (2007), o tempo de absorção pode variar de acordo com a quantidade de colostro ingerida nas primeiras horas e a frequência das mamadas, sendo que quanto maior a quantidade de colostro ingerido em menor número de mamadas, menor será o tempo de absorção.

Em estudo realizado por Kruse (1970), com o objetivo de verificar a influência da idade na absorção de imunoglobulinas do colostro, 141 bezerros foram agrupados de acordo com o tempo de ingestão de colostro em cinco grupos: 2 horas, 6 horas, 10 horas, 14 horas e 20 horas e os coeficientes de absorção obtidos foram, respectivamente, 24, 22, 19, 17 e 12. Portanto, quanto menor o tempo entre nascimento e ingestão do colostro, maior o coeficiente de absorção de imunoglobulinas.

Embora não haja absorção de colostro após certo período de idade, tem sido atribuído papel de proteção local aos anticorpos existentes no colostro fornecido suplementarmente aos bezerros, os quais protegeriam a mucosa intestinal do ataque patogênico pela aderência a mesma, levando a menores incidências de diarreia (SAIF et al., 1983; NOCEK et al., 1984; SAIF; SMITH, 1985; OLIVEIRA et al., 2005; BERGE et al., 2009). Em experimento realizado por Daniele et al. (1994), bezerros receberam 1,4L de leite + 0,6L de colostro pela manhã e igual dieta à tarde, até 30 dias de idade tiveram menor severidade de diarreia que bezerros que receberam colostro materno no primeiro dia de vida e, a partir daí, apenas leite até a desmama, sendo 2L pela manhã e 2L à tarde e bezerros que receberam 0,8L de leite + 1,2L de colostro pela manhã e 2L de leite à tarde, até 30 dias de idade, refletindo possivelmente uma melhor proteção local dos anticorpos adicionais distribuídos uniforme e constantemente no trato digestivo, levando à menor perda de peso e maior aproveitamento dos nutrientes do colostro, com melhor desempenho para esses animais.

Em estudo desenvolvido por Machado Neto et al. (2004b), foi fornecido colostro suplementar de qualidade superior (1,051 de gravidade específica) às 12

horas de vida e foi verificado que, nos animais com níveis séricos adequados de anticorpos, mais do que 20 mg/mL de IgG, independentemente da suplementação, as concentrações de IgG foram semelhantes, não sendo verificadas diferenças significativas. Já, para os animais com baixa aquisição inicial de anticorpos, menos que 20 mg/mL, verificou-se um processo de compensação em que os animais alcançaram níveis compatíveis aos animais com níveis iniciais normais de anticorpos séricos. Esses resultados são corroborados pelos dados obtidos por Kindlein et al. (2007).

II.V Método e volume do fornecimento de colostro

Há duas formas de fornecimento do colostro, uma seria a administração do colostro de maneira natural, em que o animal permanece com a mãe e a segunda seria o aleitamento artificial, no qual o bezerro recebe o colostro em balde ou mamadeira ou por meio de sonda esofágica. Em trabalho realizado por Machado Neto et al. (2004a), foram encontradas taxas menores de mortalidade para os sistemas artificiais de aleitamento, tanto no período de ingestão de colostro, como no período de aleitamento.

Segundo Heinrichs et al., 1987, o método mais comum de fornecimento de colostro observado na Pensilvânia, estado dos Estados Unidos, foi por meio de mamadeira ou baldes com bico acoplado. Ainda, segundo os mesmos autores, outra prática muito adotada é a utilização de colostro congelado, 22,8%, no entanto, na maioria das fazendas, o colostro congelado apenas é usado quando não há disponibilidade de colostro fresco. Em 44% das fazendas visitadas, ocorre separação dos bezerros de suas mães antes de serem amamentados, em 21,9% há separação após a primeira mamada e em 33,7% há separação depois de mais de uma mamada, em média, ocorre a separação em 57,6 horas.

Besser et al. (1991), observou que a prevalência de falha de FTIP foi de 2,7; 20 e 51,3% em bezerros alimentados via sonda esofágica, via mamadeira e mamando em suas mães, respectivamente. Isso ocorre porque, fornecendo colostro por meio de sonda, é possível garantir que o bezerro ingira a quantidade necessária de imunoglobulinas e, com o auxílio da mamadeira, isso também ocorre, embora necessite que o animal contribua.

Em experimento realizado por Borges et al. (2001), foram utilizados 32 bezerros machos da raça Holandesa, distribuídos em quatro grupos experimentais com oito animais cada. O grupo 1 foi tratado com 4L de colostro fornecido na mamadeira, divididos em duas alimentações de 2L cada, com intervalo de 12 horas, sendo a primeira ingestão de colostro realizada dentro das primeiras seis horas pós-nascimento. Após essa ingestão, eles passaram a receber leite em quantidade equivalente a 10% do peso vivo/dia, dividida em duas alimentações diárias fornecidas em mamadeira. O grupo 2 recebeu apenas 2L de colostro fornecidos na mamadeira dentro das primeiras seis horas pós-nascimento. Após essa ingestão a alimentação com leite foi igual à do grupo 1. O colostro utilizado nos grupos 1 e 2 foi obtido da primeira ordenha da própria mãe do bezerro. O grupo 3 ingeriu colostro voluntariamente nas mães. Nesse grupo os bezerros permaneceram com suas mães por até 24 horas. Nesse trabalho não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos 1, 2 e 3 e o grupo controle, que não recebeu colostro e apresentou valores menores de proteína total sérica e suas frações.

Há controvérsias entre os resultados obtidos, pois para a adequada transferência de imunoglobulinas ao bezerro neonato muitos fatores estão envolvidos: formação de colostro com alta concentração de imunoglobulinas, ingestão de um volume adequado de colostro e absorção eficiente (BESSER et al., 1991).

II.VI Influência da ordem de parto na qualidade do colostro

Geralmente o colostro de primíparas é menos rico em imunoglobulinas do que o colostro de pluríparas; isso ocorre porque as primeiras tem menor contato com agentes patogênicos e, portanto, responderam à infecção por um menor número de antígenos (SCHUCH, 2007; FEITOSA et al., 2010).

De acordo com dados de Pritchett et al. (1991), a concentração de Ig no colostro aumenta com o aumento da ordem de parto da vaca. No entanto, a concentração de Ig na primeira lactação não diferiu estatisticamente, tanto da segunda quanto da terceira lactação. O colostro de vacas na segunda lactação contém menor concentração de IgG1 do que o colostro de vacas mais velhas. No entanto, os autores ressaltam que a concentração de colostro em vacas de terceira lactação ou mais velhas não diferiram estatisticamente. Esses dados corroboram os

de Oyeniyi e Hunter (1978), que verificaram que a concentração de IgG no colostro de vacas na primeira, segunda e terceira lactação não diferiram entre si ($P>0,05$), porém, vacas de quarta até a sétima lactação têm maior concentração IgG no colostro ($P<0,01$).

Já em resultados encontrados por Muller e ELLINGER (1981), observa-se que a concentração de imunoglobulinas difere entre o número de partos, sendo que primíparas produzem colostro com menor concentração. Segundo dados desse experimento, os níveis de IgA são bem menores na primeira lactação do que na terceira e quarta ($P<0,05$). Os níveis de imunoglobulina total são maiores no colostro da terceira ($P<0,05$) e quarta ($P<0,10$) lactações do que na primeira lactação. As concentrações de IgG são, em menor magnitude, maiores no colostro da terceira e da quarta lactação. Não foram encontradas diferenças entre os níveis de IgM.

II.VII Influência da raça da mãe na qualidade do colostro

Segundo Oliveira et al. (2005), animais altamente produtivos têm colostro mais ricos em imunoglobulinas, dando a entender que a passagem de anticorpos do sangue para o úbere ocorre sob controle hormonal, que favoreceria a permeabilidade capilar.

No entanto, raças leiteiras apresentam níveis mais baixos de IgG em seus colostros do que raças de corte (BESSER; GAY, 1994; GUY et al., 1994 citado por SOARES FILHO et al., 2001). Essas diferenças são impostas, principalmente, pelo volume de colostro produzido e pela capacidade seletiva das células do epitélio secretor no transporte de IgG do sangue para o colostro (PRITCHETT et al., 1991; GUY et al., 1994 citado por SOARES FILHO et al., 2001).

De acordo com Oliveira et al. (2005), a concentração de imunoglobulina para cada 100 mL de colostro é de 5,6; 9,0 e 6,7, respectivamente, para as raças Holandês Preto e Branco, Jersey e Pardo-Suíço. Em trabalho executado por Muller e Ellinger (1981), foram comparadas concentrações de imunoglobulinas entre cinco raças de vacas de leite: 19 da raça Ayrshire, 17 Pardo-Suíço, 12 Guernsey, 19 Holandesa e 5 Jersey. A média de imunoglobulinas totais no colostro foi 8,1; 6,6; 6,3; 5,6 e 9,0%, respectivamente.

No Brasil, as recomendações envolvendo fornecimento de colostro a bezerros almejando uma eficiente transferência de imunidade passiva têm seguido as normas

preconizadas para rebanhos norte-americanos que, em sua maioria, são constituídos por animais da raça holandesa. Entretanto, não há um conhecimento satisfatório sobre concentrações de imunoglobulinas colostrais em vacas mestiças holandês-zebu (HZ), que são predominantes nos nossos rebanhos leiteiros. Embasados nessa premissa, Soares Filho et al. (2001) fizeram um estudo, no qual foram quantificadas imunoglobulinas G no colostro de vacas divididas em quatro grupos: Grupo 1: menos de 70% holandês (19 vacas); Grupo 2: animais com 75% holandês, que equivale a $\frac{3}{4}$ HZ (46 vacas); Grupo 3: mestiças entre 80 e 90% holandês, que correspondem a 13/16HZ e 7/8HZ (11 vacas); Grupo 4: vacas com mais de 90% holandês (12 animais). Não houve diferença significativa entre os grupos testados, isso sugere que o grau de sangue holandês, nas porcentagens estudadas, não afeta os níveis de IgG colostrais.

É importante mencionar ainda a questão do comportamento animal, que é diferente para as diferentes raças. Em experimento desenvolvido por Selman et al. (1970), foi observado que o tempo médio para bezerros filhos de vacas de corte mamar pela primeira vez foi de 81,4 min, enquanto que o tempo para bezerros filhos de vacas de leite foi de 261,1 min. De acordo com Paranhos da Costa et al. (1997), a amamentação nos bezerros da raça Nelore ocorreu em média $89,4 \pm 71,7$ min. após o nascimento ($n = 77$), com valores extremos de 25,3 e 226,0 min. Deve-se destacar que nove dos bezerros (10,47%) não mamaram até 6 horas após o parto, o que caracteriza falhas na amamentação.

II.VIII Influência da presença da mãe na absorção de colostro

Segundo trabalho de Selman et al. (1971) citado por Weaver et al. (2000), a absorção de imunoglobulinas foi maior em animais alojados com suas mães que naqueles separados de suas mães. Os bezerros mamaram até 6 a 12 horas após o parto, sendo que não houve diferença no volume ingerido entre os dois grupos. Colocou-se uma focinheira em bezerros mantidos com suas mães para impedir que eles ingerissem mais colostro que os que foram mantidos longe das vacas. Foi observado que aqueles mantidos na presença da mãe apresentaram maior concentração de imunoglobulinas quando completaram 48 horas de vida.

A baixa absorção de imunoglobulinas do colostro tem sido atribuída também ao estresse. Já foi visto que a hiperadrenalemia inicia a coibição da absorção de

macromoléculas em roedores neonatos (STOTT, 1980; NOCEK et al., 1984). Quando esse efeito da hiperadrenalemia foi testado em bezerros, tanto por meio da administração exógena, quanto devido a situações estressantes, não foi verificada alteração na absorção intestinal; no entanto, há evidências de que condições estressantes impostas à mãe no período pré-parto podem afetar a capacidade de absorção de macromoléculas no intestino (STOTT, 1980). Segundo os mesmos autores, o rato neonato nasce em um estágio imaturo e é capaz de absorver macromoléculas provenientes do colostro até o 21º dia de vida; o tratamento com corticóide reduz esse período em 4-5 dias, se for iniciado após o 12º dia. É possível que corticosteróides sejam efetivos na maturação de células absorptivas em outras espécies de mamíferos que possuam desenvolvimento similar ao do rato.

II.IX Comportamento do bezerro recém-nascido

Em estudo realizado por Selman et al. (1970) foi visto que 21 dos 23 bezerros utilizados no experimento começaram a mamar uma das tetas anteriores. Além disso, houve uma tendência dos animais mamarem sempre do mesmo lado: dos 16 bezerros que mamaram mais de uma vez durante o período de observação, oito mamaram em apenas um lado e os outros oito passaram a maior parte do tempo mamando na teta da qual receberam colostro pela primeira vez. Foi relatado que 25% dos animais desse experimento não foram capazes de mamar antes de 8 horas pós parto. Os autores citam que a conformação da mãe exerce influência no sucesso do bezerro quando tenta mamar. Quando o abdômen e o úbere são grandes e pendulosos, o bezerro tenta mamar nas axilas ou acima das tetas; quando o úbere está inserido em um ponto mais alto da barriga, os bezerros vão em direção à teta e mamam mais rápido.

II.X Influência dos distúrbios metabólicos na absorção de imunoglobulinas do colostro

Besser et al. (1990), avaliou o efeito do status ácido-básico na absorção de imunoglobulinas do colostro. Foi avaliado o pH, P_{CO_2} e HCO_3 do sangue às 2 e 4 horas após o nascimento, além da concentração sérica de IgG1 12 horas após o fornecimento de colostro. Foi visto que a acidose respiratória pós-natal afetou

adversamente a absorção de imunoglobulinas, apesar de ter sido oferecido colostro de boa qualidade, em quantidade suficiente e no período adequado para que a absorção ocorresse.

Drewry et al. (1999), observou que bezerros nascidos com alta P_{CO_2} adquirem concentração de IgG adequada se ingerirem quantidade suficiente de colostro de boa qualidade logo após o nascimento. Os valores de P_{CO_2} mensurada uma hora após o nascimento não foram relacionados com a concentração de IgG mensurada 13, 25 ou 37 horas após o nascimento, segundo os autores.

Em trabalho feito por Tyler e Ramsey (1991), não houve efeito da baixa tensão de oxigênio (hipóxia), 24 horas após o parto, na absorção de Ig do colostro em 12 bezerros da raça Holandesa.

II.XI Influência do tipo de parto na absorção de imunoglobulinas

Foram avaliadas em experimento de Gasparelli et al. (2009), as concentrações séricas de proteína total (PT), IgG e cortisol de 51 bezerros da raça Nelore, comparando-se quanto ao tipo de parto (normal ou distócico) e o tempo de duração. Não houve diferença entre os teores médios de proteína total em relação ao tipo e nem à duração dos partos. Os valores médios de imunoglobulina G não apresentaram diferença significativa em relação ao tipo de parto. Já o tempo de duração dos partos influenciou os valores séricos de IgG, sendo que os animais que demoraram entre 4 e 6 horas para o seu nascimento apresentaram menores valores (1.250 mg/dL) do que os que demoraram menos de 2 horas para nascerem (3.200 mg/dL).

II.XII Influência da vacinação da mãe na qualidade do colostro

Três experimentos foram realizados por Figueiredo et al. (2004) em duas fazendas comerciais. Os animais foram aleatoriamente alocados em blocos, de duas fêmeas prenhes (uma vacinada contra *Escherichia coli* enterotoxigenica e outra controle) e seus respectivos bezerros. No experimento A (fazenda 1), com 18 blocos, os animais receberam uma dose da vacina, 30 dias antes do parto. No experimento B (fazenda 1), com 26 blocos, os animais receberam duas doses de vacina, aos 60 e 30 dias antes do parto. No experimento C (fazenda 2), com 22 blocos, os animais

receberam o mesmo esquema de vacinação do experimento B. No experimento A não foi observada diferença entre o grupo vacinado e o controle quanto à detecção de anticorpos. No experimento B foi observada diferença ($P < 0,001$) entre o colostro de fêmeas vacinadas e o soro de seus bezerros. No C houve diferença entre o grupo vacinado e o controle para o colostro e o soro dos bezerros aos 7, 14, 28 ($P < 0,001$) e 42 dias de idade ($P = 0,003$).

II.XIII Influência do uso de corticoesteróides na mãe sobre a transferência de imunidade passiva

A administração de corticóides de longa ação (ex.: dexametasona) pode reduzir ou cessar completamente a absorção de anticorpos em animais recém-nascidos, por causarem uma maturação intestinal prematura (BOLZAN et al., 2010).

ANTONIAZZI et al. (2009) observaram que a utilização prévia do glicocorticóide de longa ação, aos 255 dias de gestação, na indução do parto em bovinos aos 270 dias com a associação de glicocorticóide de curta ação ao análogo sintético da prostaglandina $\text{PGF}_{2\alpha}$, não causa diminuição nos níveis da enzima gamaglutamiltransferase (GGT), correlacionada com a ingestão de colostro, nos bezerros, abaixo dos considerados suficientes para uma boa taxa de transferência de imunidade passiva.

II.XIV Testes utilizados para verificar a qualidade do colostro

II.XIV.I Avaliação da densidade do colostro

A avaliação da densidade do colostro é um método prático e barato que permite determinar a concentração de imunoglobulinas (Ig) e que pode permitir a seleção de colostro contendo uma concentração adequada de Ig. Em experimento realizado por Fleenor e Stott (1980) foram colhidas 14 amostras de colostro de vacas antes de 24 horas pós-parto e essas amostras foram avaliadas quanto à sua gravidade específica e seus constituintes que aparecem em maior proporção. Adicionalmente, foram colhidas 15 amostras imediatamente após o parto, antes de o bezerro mamar, e essas amostras foram avaliadas quanto à gravidade específica e a concentração de gamaglobulina. A gravidade específica não é alterada pela

presença da lactose e da albumina, que ocorrem em pequenas quantidades e têm coeficientes de variação pequenos comparados com os outros constituintes do colostro. As gamaglobulinas possuem o maior coeficiente de variação e maior efeito na alteração da gravidade específica, pois representam 47% da proteína total. A correlação entre a gravidade específica e as gamaglobulinas foi significativa, com $r^2 = 0,699$. A gordura, o nitrogênio não protéico e a caseína não foram correlacionados com a gravidade específica ($P > 0,05$), mas a lactose e a albumina foram correlacionados à gravidade específica. Segundo Mechor et al. (1992), a gravidade específica do colostro explica 76% da variação da IgG no colostro em temperatura de 20° C. O modelo de regressão para as amostras é: $\text{IgG (mg/ml)} = 853 \times \text{gravidade específica} + 0,4 \times \text{temperatura (°C)} - 866$.

A relação entre a imunoglobulina total e a gravidade específica diferiu-se entre colostro de vacas da raça Jersey e Holandesa, o que pode ser relacionado com as diferenças em porcentagem de gordura e nitrogênio não-caseínico. A regressão entre imunoglobulinas totais (g/L) e peso específico foi: $-1172 + 1180 \times \text{gravidade específica}$. A utilização do lactodensímetro para estimar a concentração de Ig usando a equação desenvolvida para vacas da raça Holandesa parece subestimar a concentração de Ig no colostro de vacas da raça Jersey (QUIGLEY et al., 1994).

Segundo Coelho e Silper (2008), a qualidade do colostro pode ser medida com um lactodensímetro. Neste caso, são utilizados os seguintes parâmetros: até 1,034, colostro ruim; de 1,035 a 1,046, colostro intermediário e acima de 1,047, colostro de alta qualidade. Os autores citaram ainda que a avaliação da densidade pode ser feita também com um colostrômetro, que mede a densidade do colostro e a relaciona com a concentração de imunoglobulinas G (IgG). A qualidade é avaliada em três categorias: vermelha, colostro ruim com até 20 mg/mL de IgG; amarelo, colostro intermediário, que varia de 21 a 50 mg/mL e verde, colostro de alta qualidade, com mais de 51 mg/mL de IgG.

II.XIV.II Quantificação da IgG no colostro por meio de imunodifusão radial simples

Segundo Madruga et al. (2001), a técnica de imunodifusão radial simples é o método mais utilizado para determinação quantitativa de imunoglobulinas e outras proteínas séricas ou plasmáticas. Esse método, de acordo com os autores, envolve

a difusão radial do antígeno a partir de um orifício central em um gel de agarose contendo anticorpos específicos apropriados, formando complexos antígeno-anticorpo, os quais apresentarão um halo de precipitação. Quando uma quantidade desconhecida de antígenos se difunde radialmente de um poço, em uma camada fina e uniforme de ágar contendo anticorpos por tempo suficiente para que todo o antígeno se combine. A área onde a precipitação do complexo antígeno-anticorpo é diretamente proporcional à concentração de anticorpos. Isso ocorre desde que a temperatura sob a qual as placas são incubadas não influencie os resultados (MANCINI et al., 1965; BECKER, 1969).

II.XV Testes utilizados para verificar o “status” de transferência passiva de imunidade

Vários testes foram desenvolvidos para avaliar o status de transferência passiva de imunoglobulinas em animais domésticos. A imunodifusão radial e o enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) são os únicos testes que podem medir diretamente a concentração de IgG no soro. Todos os outros testes disponíveis, incluindo teste de refratometria, teste de turbidez pelo sulfito de sódio, teste de turbidez pelo sulfato de zinco, atividade sérica enzima GGT e coagulação pelo glutaraldeído baseiam-se na concentração de globulinas totais ou outras proteínas cuja transferência passiva é associada com a de IgG (WEAVER et al., 2000) .

II.XV.I Concentração sérica de proteína total (PT) por refratometria

Weiss e Wardrop (2010) citado por Souto et al. (2011) observaram que a proteína plasmática total (PPT) aumenta de cerca de 4g/dL em bezerros pré-colostrais para 7g/dL em bezerros pós-colostrais. Resultados semelhantes foram observados por Kaneko e Mills (1970), que encontraram níveis médios de 4,7 g/dL no momento do nascimento e 7,1g/dL de 24-48 horas após o nascimento. Feitosa et al. (2001) constatou menor concentração de proteína total antes da ingestão do colostro, 4,11 g/dL em comparação aos 6,62 g/dL após a ingestão do mesmo.

A falha na transferência de imunidade passiva pode ser avaliada indiretamente pelos valores de PPT mensurados após o nascimento, que estão associados ao aumento da taxa de mortalidade e morbidade quando a concentração

de PPT for menor que 5,0 g/dL (DONOVAN et al., 1998 citado por SOUTO et al., 2011).

O metabolismo e a quantidade de proteínas presentes no soro de animais neonatos pode sofrer influência de diversos fatores, entre os quais se deve destacar a mamada do colostro e a idade (MACHADO NETO; PACKER, 1986; LEAL et al., 2003; SOUTO et al., 2011).

Em estudo realizado por Leal et al. (2003), constatou-se que a concentração sérica de gamaglobulina foi mínima até oito horas de idade, evoluindo com aumentos significativos até dois dias de idade, quando atingiu um valor máximo, tendo estabilidade dos valores até o 11º dia de idade e, na sequência, apresentou queda progressiva das aos 30 dias. A relação albumina:globulina apresentou um valor máximo em até oito horas de idade, seguido por queda significativa até aos dois dias pós-nascimento, quando passou a apresentar valores relativamente estáveis mantidos até aos 15 dias de idade, demonstrando então tendência a aumentos até o final do período do estudo. Os autores ressaltam que após a absorção das macromoléculas, incluindo as imunoglobulinas, ocorre o início de uma gradativa diminuição das taxas séricas de proteínas, isso em decorrência do catabolismo das imunoglobulinas adquiridas passivamente até verificar-se uma estabilização que significa uma produção endógena de imunoglobulinas pelo neonato.

O uso da proteína total por refratometria como método para determinar o status de imunidade de bezerros recém-nascidos, de acordo com Hopkins et al. (1984), é baseado na premissa de que a variação de proteína sérica reflete a transferência de imunoglobulinas, porque as imunoglobulinas são a única classe de proteína sérica, cujo nível aumenta significativamente após a ingestão e a absorção de colostro. No entanto, se a concentração de albumina variar muito, o nível de proteína total sérica não refletirá o status de imunidade do bezerro. No entanto, esse teste, segundo Tyler et al. (1999), possui baixa sensibilidade em animais desidratados, pois neles a concentração de proteína sérica total está aumentada devido à menor quantidade de plasma. Apesar disso, a concentração de proteína sérica total por refratometria, utilizando um ponto de corte de 5,5 g/dL, apresenta um bom desempenho para a detecção do status da transferência passiva. Os autores enfatizaram que um ponto de corte mais baixo resultou em valores de sensibilidade menores e um ponto de corte maior resultou em especificidade reduzida. Ambos

resultaram numa diminuição da porcentagem de bezerros classificados corretamente. Usando um ponto de corte de 5,5 g/dL, a porcentagem de vitelos classificados adequadamente foi de 85%. Em bezerros saudáveis, normohidratados, uma concentração de proteína sérica de 5,2 g/dL ou maior é associada com uma transferência passiva de imunidade adequada e com uma concentração de IgG1 de 1000 mg/dL (TYLER et al., 1996a).

II.XV.II Teste de precipitação em solução de sulfito de sódio

O teste de precipitação em solução de sulfito de sódio usa soluções de 14%, 16% e 18% de sulfito de sódio. Para cada um dos três tubos, adiciona-se 9 mL de solução e 0,1 mL de soro; após misturar bem e deixar em repouso por 60 minutos, as amostras que contêm menos imunoglobulinas do que 500 mg/dL formarão precipitado apenas com a solução com 18% de sulfito de sódio e indicação FTIP. Amostras com níveis de imunoglobulinas de 500-1000 mg/dL formarão precipitado apenas com a solução com 16% e 18% e amostras contendo 1500 mg/dL de imunoglobulina ou mais formarão precipitado com todas as três soluções, representando níveis de imunoglobulinas adequados (HOPKINS et al., 1984). As soluções desse teste causam precipitação seletiva de proteínas de elevado peso molecular, incluindo imunoglobulinas. Esta precipitação resulta em turbidez. Concentrações crescentes de solução de reagente ou sal irão induzir a turbidez em concentrações mais baixas de proteínas de elevado peso molecular (WEAVER et al., 2000).

Resultados obtidos por Batista et al. (2011) permitiram concluir que os resultados encontrados nesse teste não são precisos e só se detecta grandes quantidades de IgG no soro sanguíneo. Além disso, em altos valores de IgG sérica, o teste não se mostrou eficiente, uma vez que o teste acusou apenas 800 mg/dL em animais que possuíam valores muito acima do considerado uma transferência de imunoglobulinas eficiente, o que poderia dar uma falsa idéia de uma baixa transferência de imunoglobulinas.

II.XV.III Teste de turbidez em solução de sulfato de zinco

O teste de turbidez em solução de sulfato de zinco opera no mesmo princípio básico que o teste de precipitação em solução de sulfato de sódio. A metodologia foi descrita por McEwan et al. (1970): uma solução de sulfato de zinco (208 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) foi preparada em um balão volumétrico de utilização de água destilada que tinha sido fervida por 10-15 minutos, a fim de remover o dióxido de carbono dissolvido. Para cada amostra de soro testada, um tubo controle contendo 6 mL de água destilada e um tubo teste contendo 6 mL de solução de sulfato de zinco foram adicionados de 0,1 mL de soro e foram misturados e deixados sob temperatura ambiente por 60 minutos. A leitura da turbidez foi feita por meio de um espectrofotômetro e o resultado foi calculado através da diferença encontrada entre a leitura obtida dos tubos controle e dos tubos teste multiplicada pelo fator 10. Os resultados mostraram uma correlação altamente significativa entre as frações específicas de IgG e IgM, quando mensuradas por meio de imunodifusão radial, individualmente ou combinadas. Visualmente, de acordo com Hopkins et al. (1984), os tubos que permitem a leitura de palavras de um jornal colocado atrás contém soros com níveis de imunoglobulinas insuficientes e os tubos que as tornam ilegíveis, provavelmente têm soros com níveis de imunoglobulinas maiores que 1600 mg/dL.

II.XV.IV Enzyme linked immunosorbent assay – ELISA

O enzyme linked immunosorbent assay – ELISA é capaz de mensurar semiquantitativamente a concentração de imunoglobulinas e é similar ao teste de imunodifusão radial quanto à acurácia. Os testes disponíveis no mercado possuem baixo custo (WEAVER et al., 2000).

No ELISA, de acordo com Madruga et al. (2001), as reações antígeno-anticorpo são detectadas por meio da conjugação de um destes componentes com uma enzima, que posteriormente age sobre um substrato, produzindo uma coloração, que pode ser detectada visualmente ou mensurada por espectrofotometria. Os mesmos autores revisaram que no ELISA indireto, o antígeno relevante é adsorvido a uma superfície sólida. O soro teste é incubado e os anticorpos específicos contra esse antígeno irão se ligar a ele e os não específicos

são removidos por lavagem. Em seguida, um segundo anticorpo, conjugado a uma enzima e dirigindo contra o primeiro anticorpo, é incubado. Um substrato é então adicionado, sofrendo ação enzimática, que resultará na produção de uma coloração, cuja intensidade é proporcional à concentração dos anticorpos presentes nos soros teste.

Segundo revisto por Weaver et al. (2000), em testes preliminares, esse teste parece ter desempenho semelhante ao teste do sulfito de sódio e aos ensaios de turbidez ou de refratometria.

II.XV.V Teste de coagulação em glutaraldeído

Baixas concentrações de glutaraldeído não reagem com a albumina, no entanto, o glutaraldeído forma ligações cruzadas com fibrinogênio, embora este efeito sobre o fibrinogênio tenha sido considerado negligenciável em estudos revisados por Weaver et al. (2000), portanto, a formação do coágulo, segundo os autores, é atribuída à gelificação das gamaglobulinas. Esses resultados não estão de acordo com os encontrados em trabalho realizado por Tyler et al. (1996b), que utilizaram um teste disponível no mercado que coagula o sangue em até cinco minutos quando o animal possui níveis de imunoglobulinas sanguíneas adequados. Verificou-se que o ensaio não possui acurácia para predizer o status de transferência de imunidade passiva devido à interferência causada pelo fibrinogênio presente no sangue.

Esse teste também foi desenvolvido misturando-se 0,5 mL de soro do bezerro com 50 µL solução de glutaraldeído a 10% em um tubo teste e aguardando por uma hora. O resultado positivo é caracterizado pela formação de um coágulo opaco, firme e amarelo que não escorre quando o tubo é invertido (HOPKINS et al., 1984). Quando ocorre uma reação incompleta com a formação de um gel semi sólido, representa um nível de imunoglobulinas de 410-600 mg/dL; quando a reação não acontece, isso indica que a imunoglobulina sérica está abaixo de 400 mg/dL. Níveis séricos de imunoglobulinas abaixo de 600 mg/dL podem produzir resultados positivos. No entanto, a precisão para identificar bezerros com níveis adequados de imunoglobulinas (maior que 1600 mg/dL) é questionável (TENNANT et al., 1979). Nesse experimento foram obtidos soros de 281 bezerros em um sistema de produção de vitelos, detectando-se uma correlação direta entre concentração de

proteína sérica e gamaglobulina ($r = 0,87$). No trabalho revisto por Weaver et al. (2000), um teste de coagulação de sangue em glutaraldeído foi testado para uso em bezerros. Para desenvolver esse teste, 1,5 mL de sangue foi adicionado à uma solução de glutaraldeído e o tempo de coagulação foi observado; o tempo de coagulação menor que cinco minutos foi indicativo de transferência passiva adequada de imunoglobulinas.

II.XV.VI Atividade da enzima gamaglutamiltransferase (GGT)

A degradação de glutathione é catalisada pela enzima gamaglutamiltransferase (GGT). Essa enzima está ligada às membranas de certas células epiteliais (vilosidades jejunais, proximais dos túbulos renais, plexo coróide, corpo ciliar, receptores visuais, células da retina, epitélio, astrócitos cerebrais) e em localizações conhecidas por estarem envolvidas em fenômenos de transporte ou secreção (MEISTER; TATE, 1976). No estudo realizado por Braun et al. (1982) foi verificado que 14 bezerros neonatos tinham baixa concentração de GGT no plasma sanguíneo (10-31 U/L). A ingestão de colostro induziu um aumento da enzima, sendo que a quantidade maior foi detectado no primeiro e no segundo dia (370-5000 U/L), depois a concentração de GGT diminuiu lentamente e se estabilizou em valores aproximados de 100 U/L no vigésimo dia. Nos dois animais controle, que receberam substitutos do leite e leite fervido, não houve aumento da atividade, sendo que a concentração não ultrapassou 25 U/L.

Parish et al. (1997), mostraram que a atividade sérica da GGT é um instrumento útil para diagnóstico da falha de transferência passiva de imunoglobulinas do colostro para bezerros leiteiros recém-nascidos. Quando a população de estudo foi restringida para vitelos com menos de 11 dias de vida, o modelo utilizado tanto para mensurar GGT sérica como para concentração de proteína como teste preditivos para concentração de IgG1 tiveram coeficientes de correlação semelhantes. Os autores salientam que quando os bezerros com menos de 18 dias de idade foram considerados no desenvolvimento de um modelo de regressão para prever o status de transferência passiva em função da idade e GGT, o r observado foi consideravelmente menor (0,54) do que aquele observado quando a população do estudo foi restrita aos bezerros com menos de 11 dias de idade (0,63). Segundo revisão de Weaver et al. (2000), não há associação entre a

atividade de GGT do colostro e a subsequente atividade de GGT do soro dos bezerros. No entanto, eles verificaram que há correlação entre o log da atividade sérica de GGT e a concentração de imunoglobulinas. No estudo realizado por Perino et al.,(1993) citado por Weaver et al. (2000), que a atividade de GGT sérica e a concentração IgG em 48 bezerros aumentou após a ingestão de colostro, mas a correlação entre os dois testes foi baixa. Portanto, GGT sérico pode ser usado para confirmar a ingestão de colostro, mas não para avaliar, com precisão, a concentração de imunoglobulinas.

II.XV.VII Imunodifusão radial simples

O teste de imunodifusão radial adotado para quantificar as imunoglobulinas presentes no soro dos bezerros recém-nascidos é idêntico ao que é empregado para quantificar as imunoglobulinas do colostro.

II.XV.VIII Fracionamento eletroforético

O fracionamento eletroforético representa um dos mais confiáveis e reprodutíveis métodos de identificação de proteínas sangüíneas (KANEKO et al., 1997 citado por FAGLIARI; SILVA, 2002).

A eletroforese é uma metodologia, de acordo com Madruga et al. (2001), utilizada para a separação de moléculas, em função de suas cargas elétricas, de sua conformação e de suas massas, sob influência de um campo elétrico. Essa separação pode ser feita por meio de resinas de acrilamida tratadas com dodecil sulfato de sódio (SDS), cuja polimerização formará um gel de SDS-poliacrilamida. Esses autores enfatizam que a velocidade e, portanto, a distância de migração de uma molécula são dependentes da carga elétrica. A leitura e a interpretação das bandas no perfil eletroforético são realizadas utilizando, como parâmetro, um padrão de peso molecular (PM) conhecido, corrido paralelo às amostras a serem analisadas. Ainda segundo eles, também é possível se mensurar a massa da amostra na banda por meio de sua mobilidade relativa. A mobilidade eletroforética de uma molécula, também denominada de mobilidade relativa (M_r), é diretamente proporcional ao logarítmo de sua massa molecular e pode ser expressa pela fórmula:

$$Mr = (d/D) \times 100$$

Onde, d – é a distância de migração da molécula a ser analisada; D – é a distância de migração da linha de frente do padrão da corrida.

Weber e Osborn (1969) citaram que quando se adiciona SDS às proteínas, elas cobrem toda a molécula com carga negativa, tornando a razão carga/massa igual para todas as moléculas tratadas por SDS. Assim, no teste SDS-PAGE, as proteínas são separadas de acordo com o seu peso molecular (LAEMMLI, 1970). Segundo Sambrook et al. (1998), as amostras correm em géis de poliacrilamida, em posição vertical e devido à um campo elétrico constante. O gel do tipo poliacrilamida, segundo os últimos autores citados, são os mais eficientes para se separar fragmentos muito pequenos e com tamanho semelhante.

Após a eletroforese, pode-se mensurar a quantidade de proteína presente em cada banda por meio da densitometria (KREMERS et al., 1967). Em trabalho realizado por DeSouza et al. (2000), foi feita eletroforese em gel SDS-poliacrilamida e, após a eletroforese, o gel corado com "Comassie Blue" foi submetido à densitometria para identificação e quantificação das proteínas por densitômetro automático computadorizado. As concentrações, segundo os autores, foram obtidas por meio do cálculo da área abaixo de cada um dos picos obtidos no gráfico. Essa análise foi adequada para quantificação e identificação das proteínas em estudo.

Gordon (1995) citado por Fagliari e Silva (2002) relatou que a técnica de eletroforese em gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é relativamente simples e de baixo custo, possibilitando a visualização de concentrações protéicas extremamente baixas, identificando de 20 a 30 proteínas.

II.XVII Tratamento da FTIP

Embora os bezerros que sofrem FTIP possuam maior risco de desenvolver doenças, eles podem sobreviver se colocados em um ambiente limpo, com baixa exposição aos agentes patogênicos ou podem ainda receber antibióticos de amplo espectro com fins de profilaxia; assim, a decisão de tratar um bezerro com FTIP

deve-se basear em diversos fatores, incluindo sua idade, valor, o meio ambiente onde se encontra e a capacidade de recolher e administrar plasma ou sangue total (WEAVER et al., 2000). Estes autores observaram que o tratamento de FTIP é feito por meio da administração de plasma a uma dosagem de 20 mL/kg IV ou sangue em maior quantidade. Eles verificaram que, para diminuir o custo do tratamento, o plasma ou o sangue pode ser administrado por via intraperitoneal. Ainda, a prática de se oferecer soro oral durante a fase em que é absorvida é questionada, porque o soro contém quantidade de imunoglobulinas significativamente menor que o colostro. Além disso, como o trabalho e a despesa para a coleta de soro é maior, segundo eles, é conveniente administrá-lo de uma maneira que maximize a absorção sistêmica: por via endovenosa.

Em experimento realizado por Smith et al. (1922), avaliou-se a forma de transferência de imunidade passiva através do soro da mãe em bezerros que não receberam colostro. O soro de uma vaca em lactação, de acordo com os autores, quando injetado nos bezerros poucas horas após o nascimento, preveniu a morte de dois bezerros dos cinco que foram submetidos à esse tratamento, quando foi adicionado soro ao leite nas primeiras duas alimentações, sobreviveram três dos cinco bezerros e quando os dois métodos foram combinados, todos os bezerros submetidos à esse tratamento sobreviveram.

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1 Animais e manejo do rebanho

O estudo foi conduzido na fazenda Barreiro, localizada em Centralina, Minas Gerais, no cerrado do Triângulo Mineiro. Região que clima definido com verão quente e chuvoso e inverno com temperaturas amenas e seco. A temperatura média anual é de 23 °C e a precipitação de 1300mm.

O rebanho era composto de 500 vacas em lactação. As raças e ordens de parto das fêmeas bovinas utilizadas no experimento estão descritas na Tabela 2. As vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia e sem bezerro ao pé, alimentadas, no período frio do ano (outono/inverno), com dieta total, balanceada de acordo com os níveis recomendados pelo NRC (2001), à base de silagem de milho ou sorgo

(dependendo da disponibilidade da fazenda), suplementada com concentrado devidamente balanceado (produzido na própria fazenda), caroço de algodão e polpa cítrica. Durante o período quente (primavera/verão), eram mantidas em sistema de pastejo rotacionado suplementado com concentrado devidamente balanceado.

Tabela 2. Raças e ordens de parto das vacas mães dos bezerros utilizados no experimento

Número do animal	Raça da mãe	Ordem de parto mãe
1	Jersey	4
2	Girolando	1
3	Jersey	1
4	Jersey	1
5	Jersey	1
6	Jersey	3
7	Jersey	2
8	Jersey	2
9	Jersey	1
10	Jersey	1
11	Sueca Vermelha	1
12	Jersey	3
13	Jersey	1
14	Jersey	1
15	Jersey	1
16	Girolando	1
17	Holandesa	6
18	Holandesa	6
19	Holandesa	5
20	Jersey	2
21	Girolando	1

Todos os animais eram vacinados de acordo com o calendário zoosanitário da fazenda, contra as principais doenças endêmicas da região e doenças reprodutivas, como diarreia viral bovina (BVD), rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), leptospirose e brucelose, além das vacinas obrigatórias. As vacas e novilhas eram vacinadas contra IBR, BVD, parainfluenza bovina do tipo 3 (PI3), pasteureloses, salmoneloses e colibaciloses 15 dias antes do parto.

III.II Delineamento experimental

Os bezerros foram avaliados no experimento de 0 a 48 horas de vida. Eles eram mantidos com as mães ou separados conforme o grupo experimental em qual eram enquadrados. Todos permaneciam em piquete com sombra e capim Tifton 85 ou *Brachiaria decumbens*. A alimentação dos bezerros era constituída apenas por colostro, para os tratamentos 1, 2 e 3 e sucedâneo da marca Sprayfo Violeta® para o tratamento 4. Os bezerros não receberam vacinações até as 48 horas de vida, mas alguns deles receberam medicamentos para tratar as doenças que os acometeram. O experimento foi aprovado pela comissão de ética na utilização de animais (CEUA/UFU) e o protocolo de registro é o 106/11. O experimento foi realizado no primeiro semestre de 2012.

Os animais foram agrupados em quatro tratamentos: no tratamento 1 foram feitas cinco repetições, no tratamento 2, foram feitas seis repetições, no tratamento 3 foram feitas 5 e no tratamento 4 foram feitas 5 repetições. Não houve mais de uma réplica do experimento. Um animal foi descartado do tratamento 1 por não se submeter ao manejo proposto.

Os tratamentos foram os seguintes: tratamento 1: cinco animais foram acompanhados desde o nascimento até as primeiras 48 horas. Os bezerros permaneciam com suas respectivas mães e mamavam *ad libitum*, nas quatro glândulas mamárias, sendo um pouco em cada uma e a vaca não era ordenhada; tratamento 2: desde o nascimento até as primeiras 48 horas de vida, seis bezerros mamavam *ad libitum*, apenas na glândula mamária anterior direita e as demais eram ordenhadas duas vezes ao dia; tratamento 3: desde o nascimento até as 48 horas de vida, todas as glândulas mamárias foram ordenhadas e o colostro era fornecido à cinco bezerros, logo em seguida, em mamadeira, sendo o volume de no máximo 3L duas vezes ao dia; tratamento 4: desde o nascimento até as 48 horas de vida, todas as tetas eram ordenhadas e o sucedâneo de era fornecido à cinco bezerros em mamadeira, sendo o volume de no máximo 3L duas vezes ao dia. Apenas os animais dos tratamentos 1 e 2 permaneceram com a mãe e os demais foram para o bezerreiro.

III.III Análises laboratoriais

De cada animal foi colhida duas amostras de sangue (uma às 0 horas de vida e outra às 48 horas de vida) utilizando sistema a vácuo, com agulhas 25 x 8 mm por venopunção jugular, em tubo siliconizado, sem anticoagulante, com capacidade de 10 mL. Após a coagulação do sangue, que geralmente ocorria em 1 hora, o mesmo era armazenado em geladeira, sob temperatura de cerca de 4 °C. O soro era então separado em até 48 horas e uma alíquota de até 1,5 mL era congelada em freezer sob temperatura de -20 °C e transportada em nitrogênio líquido para o laboratório onde foi feito o teste de imunodifusão radial. Outra alíquota era utilizada nos testes de refratometria e coagulação por glutaraldeído, que eram realizados na fazenda. Descartou-se deste experimento animais oriundos de partos distócicos e aqueles que não se submeteram ao manejo proposto. Para avaliar a densidade do colostro fornecido aos bezerros foi utilizado um lactodensímetro da marca Casa Forte®. A concentração de IgG foi quantificada por imunodifusão radial simples segundo Mancini et al. (1965) e Becker (1969) utilizando kit comercial da marca Triple J. Farms®, que era constituído por placas com gel de agarose com anticorpo anti-IgG bovino e com os poços para a adição do soro além de soros com concentrações conhecidas de IgG. Os soros teste e os soros com concentração conhecida eram adicionados às placas ao mesmo tempo e elas eram lacradas nas embalagens fornecidas pelo kit para não ressecarem e incubadas sob temperatura de 22 a 25°C (próximo ao ar condicionado). A leitura foi feita após 24 horas, no “endpoint”, que ocorre quando há ligação de todo anticorpo anti-IgG com todo IgG disponível para ser ligado. A confirmação do “endpoint” se deu verificando o diâmetro dos soros com concentração conhecida de IgG e comparando com os diâmetros de precipitação que eles formariam segundo o kit. Para mensurar o diâmetro de precipitação, foi utilizado um paquímetro com resolução de 0,05 mm e, para o cálculo da concentração de IgG, foi utilizada a fórmula descrita por Becker (1969):

$$\pi R^2 = k \cdot Q + k'$$

Onde, R – é o raio do círculo de precipitação, incluindo o poço onde o soro é aplicado, em mm, k – é o coeficiente angular fornecido pelas instruções do kit, k' – é

o coeficiente linear fornecido pelas instruções kit e Q – é a concentração de IgG em mg/dL.

O resultado obtido no teste de imunodifusão radial foi comparado com os testes de refratometria em refratômetro portátil modelo RTP-20ATC – 03138, marca Instrutherm®. O resultado obtido no teste de imunodifusão também foi comparado com os obtidos no teste de coagulação em solução de glutaraldeído. Para o teste de coagulação em glutaraldeído foi utilizado 0,5 mL de soro e 50 μ L solução de glutaraldeído a 10% em tubos com tampa e com capacidade para 1,5 mL, segundo revisto por Weaver et al. (2000). As amostras que coagularam em tempo igual ou inferior a cinco minutos foram consideradas positivas (quando não há FTIP) e as que não coagularam em tempo igual ou inferior a cinco minutos foram consideradas negativas (quando há FTIP). A coagulação foi visualizada quando o soro presente nos tubos não escorriam mesmo quando invertidos.

III.IV Análise estatística

Foram utilizados apenas os soros colhidos às 48 horas de vida para a comparação entre os tratamentos. Sendo que os valores seguiram a distribuição normal, foi feito o teste de SNK (Student-Newman-Keuls) para comparar as concentrações de IgG dos soros colhidos de animais que se submeteram ao manejo proposto, em nível de 5% de significância. Também foi feito o teste de correlação entre os resultados obtidos nos testes de imunodifusão radial e refratometria de todas as amostras colhidas. Para a comparação entre os testes de imunodifusão radial e coagulação por glutaraldeído foi feita apenas uma análise descritiva.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras de colostro apresentaram densidade superior a 1,039 quando mensuradas por meio do lactodensímetro, exceto uma delas que apresentou densidade igual a 1,039; as amostras de colostro foram classificadas, segundo Coelho e Silper (2008), como de qualidade intermediária, a que apresentou densidade igual a 1,039, e como de qualidade intermediária ou de alta qualidade, as

que apresentaram densidade maior que 1,039. A escala de medição do lactodensímetro utilizado, que era de 1,018 a 1,035 ou de 0,0170 a 0,0415, corrigido segundo a temperatura do colostro, não foi capaz de detectar a diferença entre as amostras do nosso experimento. Portanto, não foi possível detectar diferença entre os colostros de vacas com diferentes raças e ordens de parto. Também não foi possível relacionar os resultados com outros resultados obtidos com animais vacinados poucos dias antes do parto. Os resultados do teste de imunodifusão radial estão apresentados na Figura 1, onde se visualizam os halos de diferentes diâmetros, que foram obtidos após a adição dos soros teste, com diferentes concentrações de IgG e dos soros controle disponibilizados pelo kit. Para esse teste foram utilizadas amostras de soro colhidas de bezerros logo após o nascimento e dos mesmos animais após completarem 48 horas de vida. Na tabela 3 verifica-se os resultados dos testes de imunodifusão radial, refratometria e coagulação por glutaraldeído em bezerros logo após o nascimento.

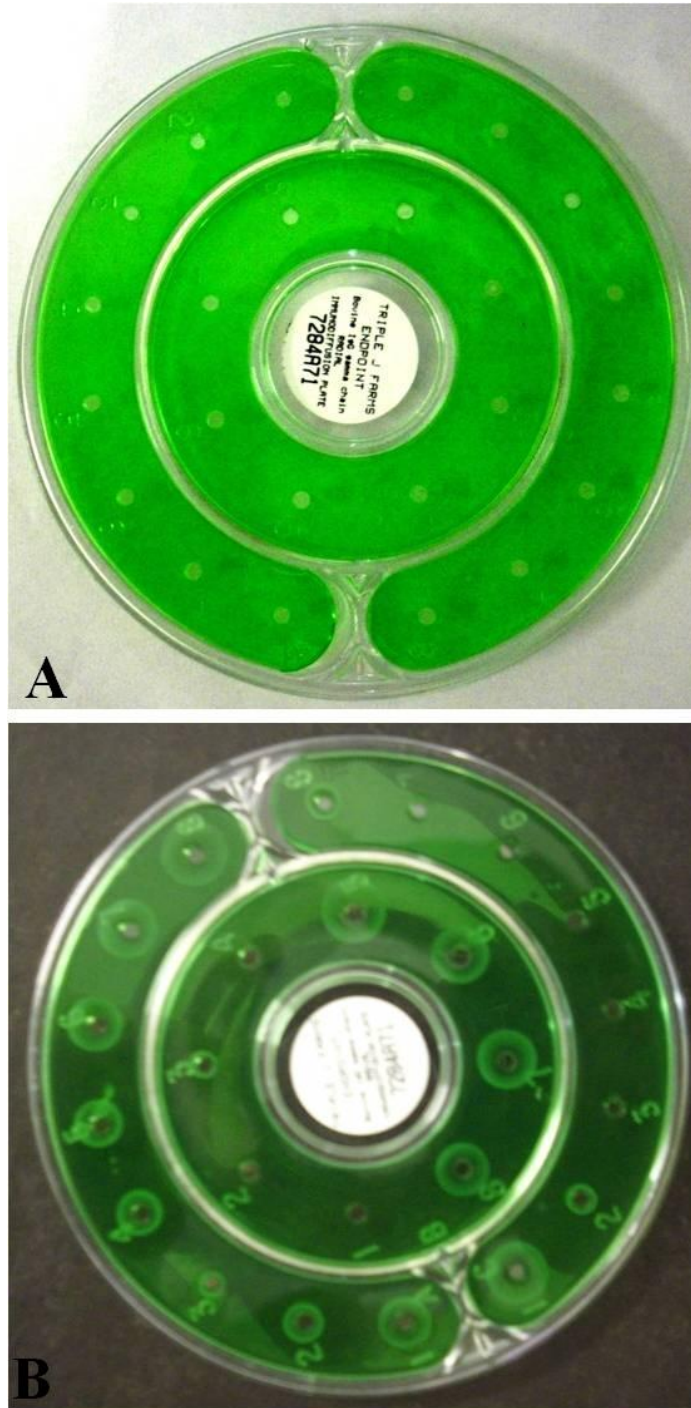


Figura 1. A. Placa antes da adição de soros teste e controle. B. Halos de diferentes diâmetros que foram obtidos após a adição dos soros teste com diferentes concentrações de IgG e dos soros controle disponibilizados pelo kit.

Tabela 3. Resultado nos testes de imunodifusão radial, refratometria e coagulação por glutaraldeído em amostras de sangue colhidas de bezerros com 0 e 48 horas de vida.

Tratamento	Número do animal	Concentração sérica de proteína total (g/dL) às 0 horas	Concentração sérica de IgG (mg/dL) às 0 horas	Resultado no teste de coagulação por glutaraldeído às 0 horas	Concentração sérica de proteína total (g/dL) às 48 horas	Concentração sérica de IgG (mg/dL) às 48 horas	Resultado no teste de coagulação por glutaraldeído às 48 horas
Tratamento 1							
	1	3,4	0	Negativo	6,2	1949,29	Positivo
	2	2,6	0	Negativo	7,6	1092,49	Positivo
	3	4,2	215,99	Negativo	8,2	2628,73	Positivo
	4	3,6	342,80	Negativo	6,0	2199,19	Positivo
	5	3,4	178,3	Negativo	5,4	-	Positivo
Tratamento 2							
	6	4,0	178,3	Negativo	5,2	1285,27	Positivo
	7	2,4	235,7	Negativo	5,6	1806,21	Positivo
	8	3,2	235,7	Negativo	6,6	2355,98	Positivo
	9	3,4	160,3	Negativo	5,0	2303,15	Positivo
	10	3,2	0	Negativo	6,0	2303,15	Positivo
	11	4,0	-	Negativo	6,4	2463,37	Positivo
Tratamento 3							
	12	3,8	0	Negativo	8,0	2857,21	Positivo
	13	3,8	142,88	Negativo	7,5	2199,19	Positivo
	14	3,8	983,68	Positivo	7,3	3341,59	Positivo
	15	3,8	0	Negativo	7,4	2857,21	Positivo
	16	3,8	599,83	Negativo	7,2	3034,57	Positivo
Tratamento 4							
	17	4,0	0	Negativo	3,6	0	Negativo
	18	3,8	0	Negativo	4,2	160,3	Negativo
	19	3,2	0	Negativo	3,4	255,97	Negativo
	20	3,4	142,88	Negativo	3,2	298,24	Negativo
	21	4,0	0	Negativo	3,0	196,85	Negativo

Tratamento 1 (bezerro que mamou um pouco de colostro em cada teta de sua mãe), tratamento 2 (bezerro que mamou em apenas uma teta de sua mãe), tratamento 3 (bezerro que recebeu colostro na mamadeira) e tratamento 4 (bezerro que recebeu sucedâneo do leite na mamadeira).

Os valores para concentração de imunoglobulinas no soro de bezerros logo após o nascimento obtidos no nosso experimento não corroboram os que foram relatados por Borges et al. (2001) e Bessi et al. (2002) devido à não padronização do horário exato para a colheita do sangue, principalmente em relação à bezerra número 14, que nasceu ao mesmo tempo que a bezerra 15. Embora o manejo tenha sido realizado corretamente quando a bezerra 14 nasceu, não foi possível coletar o sangue dela às 0 horas de vida sem auxílio dos outros dois alunos que estavam acompanhando a bezerra número 15 em outro piquete. Segundo dados obtidos por Bessi et al. (2002), as concentrações médias de IgG sérica foram $0,762 \pm 1,13$ mg/mL para os bezerros que não mamaram colostro. No entanto, para efeito de comparação entre testes, todas as amostras foram consideradas. Algumas amostras foram perdidas devido ao rompimento de alguns tubos quando foram retirados do botijão contendo nitrogênio líquido.

Os valores médios de PT do nosso estudo foram de $3,58 \pm 0,45$ g/dL às 0 horas e de $6,15 \pm 1,43$ g/dL às 48 horas (não foi incluído o grupo controle para o cálculo da média às 48 horas). Em trabalho de Souto et al. (2011), foi encontrado valor de $8,73 \pm 1,19$ g/dL às 24-36 horas de vida, valor superior ao do nosso trabalho. Já, em experimento realizado por Kaneko e Mills (1970), os valores encontrados foram mais próximos dos que foram encontrados por nós, média de 5,2 g/dL às 0 horas e 6,1 g/dL às 48 horas. Os níveis de PT encontrados não sugerem FTIP, exceto para o grupo controle.

Verificou-se diferença significativa entre o grupo de animais que não receberam colostro e aqueles que o receberam na mamadeira (Tabela 4). Não houve diferença significativa entre os bezerros que mamaram colostro em suas mães. Para esse teste foram utilizadas apenas as amostras de soro colhidas de bezerros com 48 horas de vida.

Tabela 4. Média dos valores de IgG em bezerros submetidos à quatro tratamentos diferentes.

Tratamentos	Número de animais testados	Médias dos valores de IgG
		sanguíneos (mg/dL)
1	4	1967,42 ± 647, 27 ^a
2	6	2086,19 ± 453,66 ^a
3	5	2857,95 ± 418,05 ^b
4	5	182,27 ± 114,89 ^c

Médias na coluna seguidas de letras iguais não diferem a 5% de probabilidade pelo teste SNK.

O coeficiente de variação (CV) obtido na análise de variância dos dados foi de 24,49. Os valores de IgG foram menores para o grupo que recebeu sucedâneo, o que já era esperado; sabendo-se que o sucedâneo não possui imunoglobulinas em sua composição, esse tratamento foi considerado apenas um controle negativo. Os valores encontrados foram semelhantes aos encontrados por Borges et al. (2001), que encontrou 250 mg/dL de média para gamaglobulinas no soro proveniente de sangue colhido às 48 horas de vida de bezerros que receberam apenas leite.

Em nosso estudo, os valores de IgG nos grupos 1 e 2 não diferiram entre si estatisticamente. No estudo realizado por Stott et al. (1979a), verifica-se que as opiniões quanto ao fato de serem as primeiras frações colostro mais concentradas em imunoglobulinas divergem entre si. Os níveis de IgG foram maiores para o tratamento 3, bezerros que receberam colostro na mamadeira, resultado que corrobora o que foi obtido em estudo realizado por Besser et al. (1991), no qual foi detectada uma maior prevalência de falhas na transferência de imunidade passiva nos bezerros que mamaram em suas mães, provavelmente devido ao volume de colostro ingerido ser, com grande frequência, insuficiente. Em experimento realizado por Vasseur et al. (2009), foi verificado que o consumo voluntário de colostro pelo bezerro é bastante afetado pelo peso ao nascimento e vigor do bezerro, por isso, muitos bezerros têm dificuldade de consumir a quantidade recomendada de colostro. Em nosso experimento, também observamos essa dificuldade dos bezerros em mamar nas vacas, principalmente devido à relação entre o tamanho deles e o tamanho da mãe, principalmente filhos de vacas da raça Jersey.

A transferência passiva de imunoglobulinas para os bezerros depende de três fatores: a formação de colostro com altas concentrações de imunoglobulina pela mãe, a ingestão de volume adequado de colostro pelo bezerro e a absorção eficiente de imunoglobulinas pelo bezerro (SELMAN, 1973; LOGAN, 1978; KRUSE,

1983 citados por BESSER et al. 1991).

O ato de sugar o leite pode melhorar a eficiência da absorção de imunoglobulinas do colostro, mas o volume de colostro sugado por bezerros é geralmente inadequado (STOTT et al., 1979a; EIGENMANN et al., 1983 citado por BESSER et al. 1991). No entanto, em bezerros de corte, a amamentação não assistida é muito eficiente devido à concentração de imunoglobulinas ser maior no colostro de vacas de corte, quando comparado com o colostro de vacas de leite (PETRIE et al., 1984; BRADLEY; NILO, 1984 citados por BESSER et al., 1991). Além disso, foi visto por Selman et al. (1970) que bezerros de corte começam a mamar mais rápido que bezerros de leite e que o atraso para mamar é mais comum nos últimos.

Em trabalho desenvolvido por Paiva et al. (2006), os animais foram distribuídos em três tratamentos: 1 - os bezerros foram separados das vacas 6 h após o nascimento, mamando em suas mães, por 30 minutos, duas vezes ao dia, nos três primeiros dias; 2 - os bezerros foram separados 6 h após o nascimento e nos três primeiros dias receberam o colostro em mamadeiras, duas vezes ao dia, quando receberam 2 L/refeição; 3 - permaneceram o tempo todo com as vacas durante os três primeiros dias de vida. O fato de os bezerros do tratamento 3 serem amamentados pelas mães durante o período de produção de colostro proporcionou níveis mais elevados de imunoglobulinas séricas, menor ocorrência de diarreias e uma taxa de mortalidade menor em relação aos bezerros que receberam colostro em mamadeiras. No entanto, os três tratamentos propiciaram transmissão de imunidade adequada aos bezerros, sem ocasionar estresse fisiológico, portanto, o fornecimento artificial de colostro seria o mais indicado por sua praticidade. Além disso, o volume de colostro fornecido aos animais desse experimento é de apenas 2L, enquanto em nosso experimento, foram fornecidos até 3L de colostro.

Em experimento realizado por Besser et al. (1991), utilizando maior número de animais, foi observado uma maior prevalência de falhas na transferência de imunidade passiva nos bezerros que mamaram em suas mães, provavelmente devido ao menor volume de colostro ingerido. Nesse estudo, foi observado que a prevalência de FTIP foi, respectivamente, 2,7; 20 e 51,3% em bezerros alimentados via sonda esofágica, via mamadeira e mamando em suas mães. Entretanto foi investigado que a eficiência de absorção de imunoglobulinas é maior em bezerros alimentados na mamadeira que naqueles que receberam colostro via sonda

(LATOUR-ROWET; BREUKINK, 1983; LEE et al., 1983; ZAREMBA et al., 1984 citados por BESSER et al. 1991). Dentre os animais utilizados em nosso experimento, apenas os que não receberam colostro apresentaram FTIP, no entanto, todos foram auxiliados a mamar.

Segundo Weaver et al. (2000), compreender e executar testes apropriados para avaliar a transferência de imunidade passiva é imprescindível para prover cuidado de qualidade ao neonato. Quando se comparou o teste de refratometria com o teste padrão ouro para quantificar IgG, imunodifusão radial simples, foi verificado coeficiente de correlação de Pearson (r) igual a 0,9028, que representa uma forte correlação (Gráfico 1).

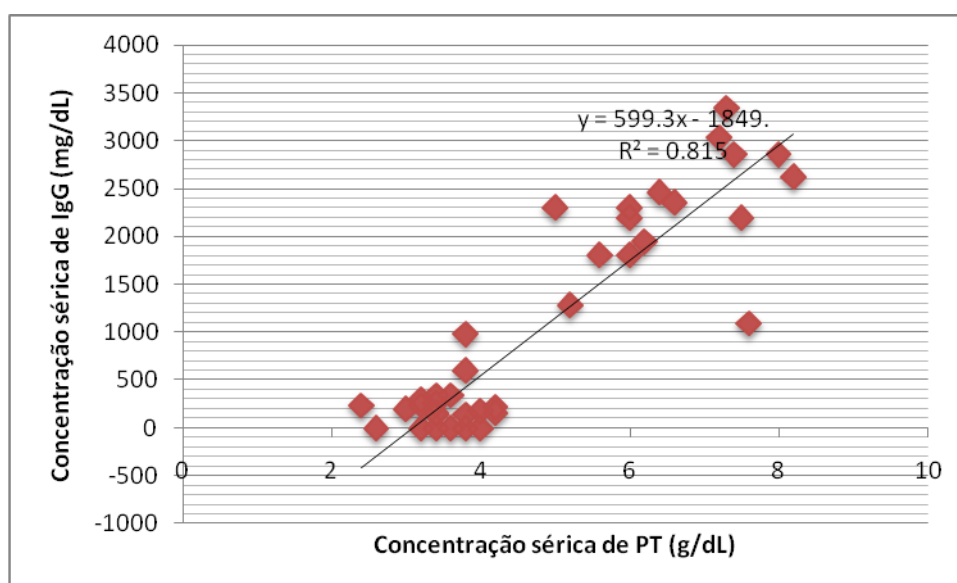


Gráfico 1. Correlação entre os valores de proteína total (PT) obtidos por meio de refratometria e os valores de IgG quantificados por imunodifusão radial simples.

A refratometria para aferir a concentração de proteína total no soro, já é amplamente utilizado, inclusive já fazia parte da rotina para bezerros na fazenda onde nosso estudo foi realizado. O refratômetro possui um custo de cerca de R\$ 160,00 e pode ser utilizado por tempo indeterminado desde que se tomem os devidos cuidados para sua conservação.

Em experimento realizado por McBeath et al. (1971) citado por Weaver et al. (2000) a mensuração da proteína sérica demonstrou uma boa correlação ($r = 0,72$) com a concentração sérica de imunoglobulina quantificada por imunodifusão radial.

Esse teste é excelente para rebanho e é facilmente executado apesar dos efeitos da idade e status de hidratação do animal (TYLER et al., 1999).

Quanto ao teste de coagulação em glutaraldeído, foi verificado que esse teste identificou 100% dos bezerros que apresentaram FTIP e não foi observado nenhum falso positivo, ou seja, para o número de animais testados, e tendo como controle o teste de imunodifusão radial. É importante ressaltar que o material biológico utilizado foi o soro, pois, quando se utiliza o sangue, a coagulação pode ocorrer devido à elevação do nível de proteína que não é de interesse para o estudo da FTIP, como ocorre quando se observa coagulação decorrente do aumento do fibrinogênio na ocorrência de reação inflamatória (TENNANT et al., 1979). É oportuno mencionar ainda que o custo do exame é baixo e a metodologia é muito simples, Figura 2, tornando-o aplicável nas fazendas onde se cria bezerros de raças leiteiras. O glutaraldeído 25% pode ser encontrado em lojas especializadas em vendas de produtos para laboratório por cerca de R\$ 50,00. No entanto, deve-se ter cuidado ao manusear e diluir, pois se trata de uma substância tóxica.



Figura . A. Resultado positivo na prova de coagulação por glutaraldeído.
B. Resultado negativo na prova de coagulação por glutaraldeído.

V. CONCLUSÕES

Colostro ordenhado das quatro tetas e fornecido por meio de mamadeira promove maior transferência de imunidade passiva aos bezerros. Os testes de refratometria para proteínas totais e de coagulação pelo glutaraldeído podem ser aplicados para identificação de animais com FTIP.

VII. REFERÊNCIAS

ANTONIAZZI, A. Q. et al. Indução do parto de bovinos aos 270 dias de gestação com a utilização prévia de glicocorticoide de longa ação e a transferência de imunidade passiva. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 31, n. 1, p. 103-109, 2009.

BATISTA, C. F. et al. Avaliação comparativa entre métodos de detecção de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros. In: IX Congresso Brasileiro de Buiatria, 2011, Goiânia. **Anais...** Goiânia:UFG, 2011. P. 327-329.

BAUMRUCKER, C. R. et al. Colostrogenesis: Mass transfer of immunoglobulin G1 into colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 7, p. 3031–3038, 2010.

BECKER, W. Determination of antisera titres using the single radial immunodiffusion method. **Immunochemistry**, v. 6, n. 4, p. 539-546, 1969.

BERGE, A. C. B. et al. Evaluation of the effects of oral colostrum supplementation during the first fourteen days on the health and performance of preweaned calves. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 286-95, 2009.

BESSER, T. E.; GAY, C. C.; PRITCHETT, L. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 3, p. 419-422, 1991.

BESSER, T. E.; SZENCI, O.; GAY, C. C. Decreased colostral immunoglobulin absorption in calves with postnatal respiratory acidosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 8, p. 1239-1443, 1990.

BESSI, R. et al. Absorção de anticorpos do colostro em bezerros. I. Estudo no intestino delgado proximal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2314-2324, 2002.

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

BLUM, J. W.; HAMMON, H. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. **Livestock Production Science**, v. 66, n. 2, p. 151-159, 2000.

BOLZAN, G. N. et al. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. **Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária**, Pelotas, jan. 2010. Disponível em <<http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/imunidade.pdf>> Acesso em: 01 de jun. 2012.

BORGES A. S. et al. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sangüíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 5, p. 629-634, 2001.

BRAUN, J. P. et al. Early variations of blood plasma gamma-glutamyl transferase in newborn calves a test of colostrum intake. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 11, p. 2178–2181, 1982.

COELHO, S. G.; SILPER, B. F. **Conheça as necessidades de fornecimento de colostro de acordo com a qualidade e com as diferentes raças. Colostro: quanto fornecer aos seus bezerros?** Minas Gerais, dez. 2008. Disponível em <<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicação.do?cdnoticia=1811>>. Acesso em: 24 abr. 2012.

DANIELE, C. et al. Efeito de diferentes manejos de fornecimento de colostro sobre os níveis de proteína e albumina sérica e desempenho de bezerras recém-nascidas. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 2, p. 381-388, 1994.

DeNISE, S. K. et al. Effects of passive immunity on subsequent production in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 2, p. 552-554, 1989.

DEVERY-POCIUS, J. E.; LARSON, B. L. Age and previous lactation as factors in the amount of bovine colostral immunoglobulins. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 2, p. 221-226, 1983.

DOMINGUEZ, E.; PEREZ, M. D.; CALVO, M. Effect of heat treatment on the antigen-binding activity of anti-peroxidase immunoglobulins in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 12, p. 3182–3187, 1997.

DREWRY, J. J. et al. Effect of high arterial carbon dioxide tension on efficiency of immunoglobulin G absorption in calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 5, p. 609-614, 1999.

DeSOUZA, E. M. T. et al. Electrophoretic analisys to detect and quantify additional whey in milk and dairy beverages. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 314-317, 2000.

FAGLIARI, J. J. et al. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalis bubalis*) raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.

FAGLIARI J. J.; SILVA, S. L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hígidos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 6, p. 559-586, 2002.

FEITOSA, F. L. F. et al. Comparação do proteinograma e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de bezerros e de cabritos após ingestão de colostro. **ARS Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 16-21, 2006.

FEITOSA, F. L. F. et al. Concentração de imunoglobulinas G e M no soro sanguíneo

de bezerros da raça Holandesa até os 90 dias de idade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. suplemento 1, p. 26-31, 2003.

FEITOSA, F. L. F. et al. Índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros holandeses e nelores, às 24 e 48 horas de vida: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina G e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase, para o diagnóstico de FTIP. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 8, p. 696-704, 2010.

FEITOSA, F. L. F. et al. Proteinograma sérico de bezerros holandeses do nascimento até um ano de vida. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 8, n. 2, p. 105-108, 2001.

FIGUEIREDO, H. C. P. et al. Passive immunity in cattle against enterotoxigenic *Escherichia coli*: serologic evaluation of a bacterin containing K99 and F41 fimbriae in colostrum of vaccinated females and calf serum. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 4, p. 425-432, 2004.

FLEENOR, W. A.; STOTT, G. H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 6, p. 973-977, 1980.

FOLEY, J. A., OTTERBY, D. E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 8, p. 1033-1060, 1978.

FROIS, M. C. M. et al. Tendência histórica dos coeficientes de mortalidade de bezerros em Minas Gerais, de 1960 a 1985. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, n.6, p. 741-747, 1994.

GASPARELLI, E. R. F. et al. Teores séricos de proteína total, imunoglobulina G e cortisol em bezerros Nelore, ao nascimento e às 24 horas de vida: influência do tipo e da duração dos partos. **ARS VETERINARIA**, v. 25, n. 3, p. 120-124, 2009.

HEINRICHS, A. J. et al. Survey of calf and heifer management practices in Pennsylvania dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 4, p. 896-904, 1987.

HOPKINS, F. M; DEAN D. F, GREENE, W. Failure of passive transfer in calves: comparison of field diagnosis methods. **Modern Veterinary Practice**, v. 65, n. 8, p. 625-628, 1984.

JOHNSON, J. L. et al. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 11, p. 5189-5198, 2007.

JONES, L. R.; TAYLOR, A. W.; HINES, H. C. Characteristics of frozen colostrum thawed in a microwave oven. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 9, p. 1941-1945, 1987.

KANEKO, J. J.; MILLS, R. Hematological and blood chemical observations in neonatal normal and porphyric calves in early life. **Cornell Veterinarian**, v. 60, n. 1, p. 52-60, 1970.

KEHOE, S. I.; JAYARAO, B. M.; HEINRICHS, A. J. A. Survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 9, p. 4108- 4116, 2007.

KINDLEIN, L. et al. Efeito do fornecimento adicional de colostro sobre as concentrações séricas de IgG, PT e IGF-I de bezerros neonatos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 4, p. 375-85, 2007.

KREMERS, B.; BRIERE, R. O.; BATSAKIS, J. G. Reflectance densitometry of cellulose acetate protein electrophoresis. **American Journal of Medical Technology**, v. 33, n. 1, p. 28-34, 1967.

KRUSE, V. Absorption of immunoglobulin from colostrum in newborn calves. **Animal Production**, v. 12, n. 4, p. 627-638, 1970.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LASCELLES, A. K. The immune system of the ruminant mammary gland and its role on the control of mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 1, p. 154-167, 1979.

LARSON, B. K.; HEARY, H. K. JR.; DEVERY, J. E. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 4, p. 665-671, 1980.

LEAL, M. L. R. et al. Proteinograma sérico de bezerras sadias da raça holandesa, no primeiro mês pós-nascimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 2, p. 138-145, 2003.

MACHADO NETO, R. et al. Avaliação do fornecimento adicional de colostro para bezerros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 02, p. 420-425, 2004b.

MACHADO NETO, R. et al. Levantamento do manejo de bovinos leiteiros recém-nascidos: desempenho e aquisição de proteção passiva. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. suplemento 6, p. 2323-2329, 2004b.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I. U. Flutuação de imunoglobulina sérica em bezerros da raça Holandesa submetidos a diferentes regimes de aleitamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 15, n. 5, p. 439-447, 1986.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. **Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 360p.

MANCINI, G.; CARBONARA, A. O.; HERMANS, F. J. Immunochemical quantitation of antigens by a single radial immunodifusion. **Immunochemical**, v. 2, n. 3, p.235-254, 1965.

MANCIO, A. B. et al. Colostro fermentado, associado ao óleo de soja e promotor de crescimento, em substituição ao leite, na alimentação de bezerros mestiços leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1314-1319, 2005.

McEWAN, A. D. et al. A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum. **Clinica Chimica Acta**, v. 27, n. 1, p. 155-163, 1970.

MCGUIRE, T. C. et al. Failure of colostral immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 169, n. 7, p. 713-718, 1976.

MECHOR, G. D.. Y. T. et al. Specific gravity of bovine colostrum immunoglobulins as affected by temperature and colostrum components. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3131-3135, 1992.

MEISTER, A.; TATE, S. S. Glutathione and related T-glutamyl compounds: Biosynthesis and utilization. **Annual reviews of biochemistry**, v. 45, p. 559-604, 1976.

MOKHBER DEZFOULI, M. R. et al. Efficacy of dried colostrum powders in the prevention of diarrhea in neonatal Holstein calves. **Comparative Clinical Pathology**, v. 16, n. 2, p. 127–130, 2007.

MULLER, L. D.; ELLINGER, D. K. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 8, p. 1727-1730, 1981.

NOCEK, J. E.; BRAUND, D. G.; WARNER, R. G. Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrum on calf gain, health, and serum protein. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 2, p. 319-333, 1984.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.

OLIVEIRA, A. A.; AZEVEDO, C. H.; MELO, C. B. **Criação de bezerras em sistemas de produção de leite**. Aracaju: Embrapa/Tabuleiros Costeiros, 2005. 8 p. (Circular Técnica, 38).

OYENIYI, O. O.; HUNTER, A. G. Colostral constituents including immunoglobulins in the first three milkings postpartum. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 1, p. 44-48, 1978.

PAIVA, F. A. et al. Efeito do manejo de fornecimento de colostro na imunidade passiva, cortisol e metabólitos plasmáticos de bezerros Holandeses. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 739-743, 2006.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R. et al. Uma breve descrição do comportamento de vacas e bezerros da raça Nelore nas primeiras horas após o parto. In: Simpósio: O Nelore do Século XXI, 4, 1997, Uberaba, MG, **Anais...** Uberaba: Associação Brasileira dos Criadores de Zebu, 1997. P. 222-224.

PARISH, S. M. et al. Prediction of serum IgG1 concentration in Holstein calves using serum gamma glutamyltransferase activity. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 6, p. 344-347, 1997.

PARRISH, D. B., G. H. et al. Properties of the colostrum of the dairy cow. V. Yield, specific gravity, and concentrations of total solids and its various components of colostrum and early milk. **Journal of Dairy Science**, v. 33, n. 6, p. 457-465, 1950.

PRITCHETT, L. C. et al. Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 7, p. 2336-2341, 1991.

QUIGLEY, J. D. et al. Immunoglobulin concentration, specific gravity, and nitrogen fractions of colostrum from Jersey cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 1, p. 264-269, 1994.

QUIROZ-ROCHA, G. F.; BOUDA, J. Transferência de imunidade passiva ao terneiro e avaliação da qualidade do colostro. In: GONZÁLES, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. **Uso de provas de campo e laboratório clinic em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000, p. 53-56.

ROBISON, J. D.; STOTT, G. H.; DeNISE, S. K. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 5, p. 1283-1287, 1988.

SAALFELD, M. H. et al. Milk is for children, colostrum silage is for calves. **Nature Precedings**, out. 2011. Disponível em: < <http://precedings.nature.com/documents/6553/version/1> > Acesso em: 20 maio. 2012.

SAIF, L. J.; SMITH, L. Enteric viral infections of calves and immunity. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 1, p. 206-228, 1985.

SAIF, L. J. et al. Passive immunity to bovine rotavirus in newborn calves fed colostrum supplements from immunized or non immunized cows. **Infection and Immunity**, v. 41, n. 3, p. 1118-1131, 1983.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning, A Laboratory Manual**, 2 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998. 956p.

SCHUCH, L. F. D. Diarréia dos bezerros. In: RIET-CORREA F. et al. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. v.1, 3 ed. Santa Maria: Pallotti. 2007, p. 496-508.

SELMAN, I. E.; McEWAN, A. D.; FISHER, E. W. Studies on natural suckling in cattle during the first eight hours postpartum II. Behavioural studies (calves). **Animal Behaviour**, v. 18, n. 2, p. 284-289, 1970.

SILPER, B. F. Avaliação da qualidade do colostro e transferência de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.281-285, 2012.

SMITH, T.; LITTLE, R. B. Cow serum as substitute for colostrum in new-born calves. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 36, n. 4, p. 453-468, 1922.

SOARES FILHO, P. M. et al. Concentração de imunoglobulina em colostro de vacas mestiças Holandês-Zebu. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1033-1037, 2001.

SOUTO, P. L. G. et al. Avaliação dos valores de proteína plasmática total em bezerros do grupamento genético Curraleiro/Pé-duro. In: IX Congresso Brasileiro de Buiatria, 2011, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2011. P. 430-433.

STOTT, G. H. et al. Colostral Immunoglobulin Transfer in Calves I. Period of Absorption. **Journal of Dairy Science**, v.62, n. 10, p. 1632-1638, 1979b.

STOTT, G. H. et al. Colostral immunoglobulin transfer in calves. IV. Effect of sucking. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n.12, p. 1908-1913, 1979a.

STOTT, G. W. Immunoglobulin absorption in calf neonates with special consideration of stress. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 4, p. 681-688, 1980.

TENNANT, B. et al. Use of the glutaraldehyde coagulation test for detection of hypogammaglobulinemia in neonatal calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 174, n. 8, p. 848-853, 1979.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 7.ed. London: Saunders Company. 2004. 476 p.

TYLER, J. W. et al. Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 10, n. 5, p. 304-307, 1996b.

TYLER, J. W. et al. Detection of low serum immunoglobulin concentrations in clinically ill calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, n. 1, p. 40-43, 1999.

TYLER, J. W. et al. Evaluation of a whole blood glutaraldehyde coagulation test for the detection of failure of passive transfer in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 10, n. 2, p. 82-84, 1996a.

TYLER, H.; RAMSEY, H. Hypoxia in neonatal calves: Effect on intestinal transport of immunoglobulins. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 6, p. 1953-1956, 1991.

VASSEUR, E.; RUSHEN, J.; PASSILLÉ, A. M. Does a calf's motivation to ingest colostrum depend on timesince birth, calf vigor, or provision of heat? **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 8, p. 3915-3921, 2009.

WEAVER, D. M. et al. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 6, p. 569-77, 2000.

WEBER, K; OSBORN, M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 244, n. 16, p. 4406-4412, 1969.

WITTUM, T. E.; PERINO, L. J. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 9, p. 1149-54, 1995.