

CONCENTRAÇÕES DE IMUNOGLOBULINAS G EM COLOSTRO DE VACAS MISTIÇAS HOLANDÊS-ZEBU¹

COLOSTRAL IMMUNOGLOBULIN G CONCENTRATIONS IN CROSSBRED HOLSTEIN-ZEBU DAIRY COWS

Paulo Martins Soares Filho² Pacífico Antônio Diniz Belém³ José Ivo Ribeiro Júnior⁴
Joaquim Hernan Patarroyo Salcedo⁵

RESUMO

Oitenta e oito vacas leiteiras mestiças holandês-zebu (HZ) foram distribuídas de acordo com a percentagem de grau de sangue holandês em quatro grupos: Grupo 1 = animais com menos de 70% de grau de sangue holandês (19 vacas); Grupo 2 = animais com 75% de grau de sangue holandês, que equivale a 3/4 HZ (46 vacas); Grupo 3 = mestiços entre 80 e 90% de grau de sangue holandês, que corresponderam a 13/16 HZ e 7/8 HZ (11 vacas); Grupo 4 = vacas com mais de 90% de grau de sangue holandês (12 vacas). Após o parto, amostras de colostro da primeira ordenha foram colhidas e, posteriormente, submetidas à imunodifusão radial simples para determinações dos níveis de imunoglobulinas G (IgG). Os resultados obtidos permitiram concluir que as concentrações de IgG não são influenciadas pelos graus de sangue estudados e seus valores médios (145,94mg/ml) são muito superiores aos relatados para animais de raças taurinas puras. Por esse motivo, não se justifica o emprego de métodos artificiais de fornecimento do colostro em se tratando de mestiços HZ. Ademais, o nível elevado de IgG observado no colostro sugere que a adoção da prática da mamada natural assistida seja adequada para assegurar que, na maioria das vezes, os neonatos não venham a apresentar falhas de transferência de imunidade passiva.

Palavras-chave: bovinos, colostro, imunoglobulina, transferência de imunidade passiva, imunidade neonatal.

SUMMARY

Eighty-eight healthy crossbred holstein-zebu (HZ) dairy cows were distributed in four groups as follow: Group 1 = less than 70% HZ (19 cows); Group 2 = 75% HZ animals,

corresponding to 3/4 HZ (46 cows); Group 3 = crossbred animals between 80 to 90% HZ, corresponding to 13/16 HZ and 7/8 HZ (11 cows); Group 4 = cows more than 90% HZ (12 animals). After birth, colostrum samples were obtained from each cow and then were analyzed for immunoglobulin G (IgG) concentration by single radial immunodiffusion assay. IgG colostrum concentrations were not influenced by group of crossbred HZ and its mean concentration (145.97mg/ml) were higher than that related for purebreds *Bos taurus* dairy cows. Considering these results, it was concluded that artificial methods of feeding colostrum to crossbred HZ calves are not necessary. Probably, assisted natural sucking as soon after birth as possible is enough to get passive immune transfer.

Key words: cattle, colostrum, immunoglobulin, passive transfer immunity, neonatal immunity.

INTRODUÇÃO

Os níveis séricos de imunoglobulinas necessários para conferir proteção a bezerros recém-nascidos são influenciados por determinados fatores ambientais e pela carga de patógenos à qual os animais são expostos (HOPKINS *et al.*, 1984; GARRY *et al.*, 1993). No entanto, há um consenso de que, em bezerros com 24 horas de idade, concentrações mínimas de imunoglobulinas G (IgG) séricas equivalentes a 10mg/ml são suficientes para minimizar riscos de doenças infecciosas na maioria dos ambientes onde esses animais são criados

¹Parte da dissertação apresentada pelo autor principal à Universidade Federal de Viçosa (UFV) como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

²Médico Veterinário, Mestre em Medicina Veterinária.

³Professor Titular, Doutor, Departamento de Veterinária, UFV, Av. P. H. Rolfs, s/n, Campus Universitário, 36571-000, Viçosa/MG. E-mail: pbelem@mail.ufv.br. Autor para correspondência.

⁴Professor Adjunto, Doutor, Departamento de Informática, UFV.

⁵Professor Titular, Doutor, Departamento de Veterinária, UFV.

(BOVINE ALLIANCE ON ... , 1998). TYLER *et al.* (1996), por outro lado, admitem que concentrações séricas mais elevadas talvez sejam requeridas por animais criados em más condições de higiene e que, em situações radicalmente opostas, concentrações inferiores às referidas acima também poderiam ser suficientes.

Para que sejam alcançados níveis séricos de anticorpos considerados adequados, cerca de 80 a 100g de imunoglobulinas deverão ser ingeridas pelo recém-nascido através do colostro logo após o parto (RADOSTITS *et al.*, 1994). Sob esse aspecto, tem sido recomendado que bezerros neonatos devem receber, no seu primeiro dia de vida, um volume de colostro correspondente a 10% do seu peso, sendo metade fornecida dentro das primeiras seis horas pós-parto e o restante até doze horas (PARISH, 1996). Aqueles pertencentes a raças leiteiras de maior porte devem ingerir, no mínimo, quatro litros de colostro (GAY & BESSER, 1991; MORIN *et al.*, 1997).

Para estabelecimento das práticas referidas acima, pesquisadores procuraram conhecer as concentrações de imunoglobulinas do colostro, mas a grande maioria dos estudos foi feita em rebanhos constituídos por animais da raça holandesa. A partir do momento em que foram encontradas diferenças nas concentrações de imunoglobulinas colostrais em outros rebanhos (QUIGLEY *et al.*, 1994; PERINO, 1997; TYLER *et al.*, 1999), surgiram questionamentos sobre essas recomendações (TYLER *et al.*, 1999) ou até mesmo foram introduzidas modificações envolvendo práticas de fornecimento de colostro (BRENNER *et al.*, 1992; QUIGLEY *et al.*, 1995). De fato, a concentração de imunoglobulinas no colostro é o mais importante fator a se considerar quando se decide qual volume o animal deve mamar, pois o que se está procurando com as práticas usuais referidas é a administração de imunoglobulinas e não colostro *per se*. Obviamente, se a concentração de imunoglobulinas for baixa, maior volume de colostro será necessário (QUIGLEY, 1997).

No Brasil, as recomendações envolvendo fornecimento de colostro a bezerros objetivando 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. Acredita-se que informações dessa natureza, geradas por essa pesquisa, permitirão ajustar a implementação de

práticas relacionadas ao fornecimento de colostro a bezerros neonatos mantidos na maioria das nossas condições de criação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Na presente pesquisa, foram utilizadas alíquotas de colostro obtidas de oitenta e oito vacas de diferentes ordens de lactação, cujos partos ocorreram entre junho e setembro de 1999. Todas elas eram pertencentes a seis fazendas de criação de bovinos leiteiros mestiços HZ localizadas nas microrregiões de Ponte Nova e Viçosa, Minas Gerais, onde eram mantidas produções de leite diárias superiores a 500 litros e média de 12 a 15 litros/vaca. Os animais eram todos hípidos e sem histórico de mastite ou outra afecção que pudesse interferir na composição do colostro. O volume de colostro produzido por eles, na primeira ordenha pós-parto, situou-se entre 0,5 e 5 litros.

As alíquotas de colostro foram recolhidas em frascos plásticos individuais que, em seguida, foram congelados a -20°C nas próprias fazendas ou no Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Posteriormente, esse material foi descongelado e processado em laboratórios da Instituição.

Além do material já referido, foram colhidas informações sobre o grau de sangue holandês dos animais utilizados na pesquisa, o que permitiu distribuí-los em quatro grupos: Grupo 1 = menos de 70% de grau de sangue holandês (19 vacas); Grupo 2 = animais com 75% de sangue holandês, que equivale a $\frac{3}{4}$ HZ (46 vacas); Grupo 3 = mestiças entre 80 e 90% de grau de sangue holandês, que correspondem a $\frac{13}{16}$ HZ e $\frac{7}{8}$ HZ (11 vacas); Grupo 4 = vacas com mais de 90% de grau de sangue holandês (12 animais).

A concentração de IgG no colostro foi determinada através da técnica de imunodifusão radial simples segundo JOHNSON (1986), com modificações. No caso, o ágar de trabalho era preparado imediatamente antes do uso, diluindo-se a 1:100 a solução estoque de anticorpos anti-IgG bovina (28mg de proteína/ ml) com outra de agarose a 1% em PBS (Phosphate Buffered Saline) pH 7. A seguir, placas de poliestireno (cultivo celular) eram previamente aquecidas a 52°C e, então, volumes de $354\mu\text{l}$ de ágar eram transferidos para 23 das 24 escavações de cada placa, o que permitia a formação de camadas com espessura uniforme em todas elas. Após solidificação à temperatura ambiente, orifícios de 2,5mm de diâmetro eram feitos no centro das camadas de gel contidas nas escavações e cada um

deles preenchido com volumes de 5µl durante as provas de imunodifusão radial simples. Assim, cada placa recebia cinco soluções de concentrações conhecidas de IgG destinadas a se construir uma curva padrão, além de duplicatas de seis amostras de colostro diluídas a 1:200 em PBS pH 7.

Para estudar o efeito do grau de sangue sobre a concentração de IgG, foi proposto o modelo estatístico $Y_{ij} = \mu + g_i + e_{ij}$, em que Y_{ij} = valor observado no grau de sangue i no animal j ($i = 1, 2, 3$ e 4); μ = constante inerente a todas as observações; g_i = efeito do grau de sangue i ; e_{ij} = erro experimental associado à observação Y_{ij} .

Os resultados das concentrações de IgG foram submetidos à análise de variância, com a aplicação do teste F, a 5% de probabilidade, para comparação das médias dos diferentes grupos de graus de sangue, utilizando-se do programa estatístico SAEG 8.0. Também, dentro do contexto da análise de variância, foi construído um intervalo de confiança para a média com nível de confiança de 95%, dado por IC $(\mu)_{0,95} = \mu \pm t_{0,05/2} * \sqrt{QMRes/n}$, em que: μ = média geral do experimento; $t_{0,05/2}$ = valor tabelado de t , a 5% de probabilidade, com n graus de liberdade do resíduo; QMRes = quadrado médio do resíduo da análise de variância; n = número total de vacas analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que os diversos grupos de graus de sangue não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) com relação às médias de IgG (Tabela 1). De acordo com BESSER & GAY (1994), BOVINE ALLIANCE ON... (1998) e TYLER *et al.* (1999), vacas holandesas apresentam menores concentrações de IgG em seus colostros, quando comparadas às

Tabela 1 - Concentrações de IgG no colostro de vacas mestiças holandês-zebu, das microrregiões de Ponte Nova e Viçosa, de acordo com os grupos de graus de sangue holandês.

Grupos (Graus de sangue)	IgG (mg/ml)*
1 (< 70% holandês)	139,90
2 (75% holandês)	150,86
3 (80 a 90 % holandês)	126,12
4 (> 90 % holandês)	154,83
Média	145,94
CV(%)	38,75

*As médias dos diferentes grupos de graus de sangue não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste F.

guernsey, jersey e pardo suíço. Sendo assim, esperava-se que vacas HZ, com maior grau de sangue holandês, tais como aquelas dos grupos 3 e 4, apresentassem menores concentrações de IgG no colostro do que as demais. No entanto, os resultados aqui expostos sugerem que o grau de sangue holandês, nas porcentagens estudadas, não afeta os níveis de IgG colostrais. Talvez esse fato possa ser atribuído ao cruzamento com raças zebuínas que, supostamente, devem exibir níveis de imunoglobulinas colostrais similares a raças taurinas de corte. De fato, sabe-se que essas raças se caracterizam, de um modo geral, por apresentarem níveis mais elevados de IgG em seus colostros do que raças leiteiras (BESSER & GAY, 1994; GUY *et al.*, 1994). 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).

Segundo BESSER & GAY (1993), QUIGLEY (1997) e RADOSTITS *et al.* (2000), produções acima de 8 a 9kg de colostro correlacionam-se com baixos níveis de anticorpos nessa secreção. Como a produção de colostro dos animais dessa pesquisa situou-se entre 0,5 e 5 litros de colostro, pode-se supor que valores considerados de risco para promover uma maior diluição das imunoglobulinas não foram atingidos.

Adicionalmente, a carga e a diversidade de agentes infecciosos presentes nos diversos ambientes onde os animais são criados contribuem para estimular a produção de imunoglobulinas colostrais (BOVINE ALLIANCE ON..., 1998). Na maioria das propriedades leiteiras nacionais, são encontradas essas condições, porquanto os ambientes não foram projetados e tampouco recebem cuidados adequados para se reduzirem desafios impostos pela carga de patógenos do meio. Obviamente que as propriedades onde essa pesquisa foi conduzida não são exceção ao que acaba de ser discutido.

Há de ser considerado que, embora não tenha sido demonstrado para raças leiteiras, vacas de corte mestiças apresentaram níveis de anticorpos colostrais superiores àqueles encontrados nas puras que deram origem ao cruzamento (NORMAN *et al.*, 1981). Porém, deve-se ressaltar que, no caso de zebuínos e mestiços HZ, a literatura não registra informações, mas o mesmo fenômeno poderia ocorrer.

O resultado de não significância do teste F para as médias encontradas em todos os grupos de graus de sangue (Tabela 1) permite que se considere o valor de 145,94mg de IgG/ml de colostro como

estimativa da média para vacas mestiças HZ. Considerando-se que a característica mostrou-se bastante instável ($CV > 30\%$), e, portanto, sua média pouco representativa, foi estabelecido um intervalo de confiança para a média, com 95% de nível de confiança, cujos limites variaram entre 134,00 a 157,88mg/ml.

No colostro de vacas holandesas, MULLER & ELLINGER (1981) encontraram concentrações médias de IgG de 41,20mg/ml, PRITCHETT *et al.* (1991) de 48,20mg/ml e LEVIEUX & OLLIER (1999) de 59,80mg/ml. Em vacas jersey, MULLER & ELLINGER (1981) e QUIGLEY *et al.* (1994) relataram valores da ordem de 66mg/ml, enquanto na raça guernsey foram descritas taxas de 50,02mg/ml (MULLER & ELLINGER, 1981) e 115,67mg/ml (TYLER *et al.*, 1999). Comparando-se esses valores com aqueles obtidos nesta pesquisa, constata-se que o valor inferior do intervalo de confiança corrobora a afirmação de valores de IgG colostrais altos para vacas mestiças HZ.

Faz-se mister salientar que essa grande amplitude do intervalo de confiança para a média tem pequena importância, já que taxas médias acima de 50mg de IgG/ml de colostro são preconizadas para atendimento às exigências de transferência de imunidade passiva (GAY & BESSER, 1991). Além disso, os níveis de IgG colostrais encontrados, comparativamente maiores que os descritos por autores europeus e norte-americanos em raças leiteiras taurinas puras (KRUSE, 1970; MULLER & ELLINGER, 1981; PRITCHETT *et al.*, 1991; QUIGLEY *et al.*, 1994; TYLER *et al.*, 1999; LEVIEUX & OLLIER, 1999), impõem uma reflexão sobre o conceito de que quatro litros de colostro deveriam ser oferecidos para bezerros neonatos mestiços HZ nas primeiras 24 horas de vida com fins de transferência de imunidade passiva. De fato, sabendo-se que um animal desses deve ingerir de 80 a 100g de imunoglobulinas colostrais (RADOSTITS *et al.*, 1994), bastaria a ingestão de um volume inferior a 1 litro para atendimento a essa recomendação. Considerações semelhantes a respeito de reduções de volumes de colostro a ser administrado a neonatos pertencentes a raças que apresentaram concentrações de imunoglobulinas colostrais mais elevadas foram feitas também por TYLER *et al.* (1999) e, inclusive, BRENNER *et al.* (1992) estabeleceram como prática o fornecimento de apenas 1,5 litro de colostro para fins de transferência de imunidade passiva em rebanhos que apresentaram níveis de IgG colostrais próximos àqueles aqui encontrados.

Em decorrência dos altos níveis de imunoglobulinas observados nas amostras de colostro analisadas, é provável que se bezerros mestiços holandês-zebu conseguirem ingerir um pouco de colostro em momento pós-parto adequado, na maioria das vezes não terão problemas com relação à transferência de imunidade passiva. Seria, pois, remota a probabilidade de que um volume de colostro procedente de animais hípidos e que tivessem um período seco não muito reduzido viesse a fornecer uma massa de imunoglobulinas aquém do recomendável para fins de imunidade neonatal.

Segundo PARISH (1996), em rebanhos leiteiros, a percentagem de bezerros com falha de transferência de imunidade passiva situa-se entre 15 e 68%, sendo as principais causas a demora na primeira ingestão de colostro, as pequenas quantidades de colostro ingeridas e as baixas concentrações de imunoglobulinas colostrais. Em função dos resultados obtidos, acredita-se que, na maioria das vezes, apenas o primeiro fator relacionado acima poderia ser responsabilizado por esse tipo de problema em bezerros mestiços HZ.

A maioria das propriedades leiteiras nacionais recorre à mamada natural não assistida para fornecimento do colostro. Sabidamente, no caso de rebanhos holandeses, essa prática é a que mais está associada à hipogamaglobulinemia em bezerros (BESSER *et al.*, 1991) mas, nas raças de corte, a transferência de imunoglobulinas é conseguida de maneira bastante satisfatória exatamente com a mamada natural. Isso pode ser explicado pelo fato de que bezerros recém-nascidos de corte são mais vigorosos e as concentrações de imunoglobulinas colostrais bem mais altas, possibilitando, assim, que a ingestão de volumes menores de colostro forneçam quantidades adequadas de imunoglobulinas requeridas para a transferência de imunidade passiva (RADOSTITS *et al.*, 2000). A rigor, o mesmo deve ocorrer com animais mestiços HZ criados em nosso país. Portanto, é provável que na maioria das vezes não se justifique o emprego de métodos artificiais de fornecimento do colostro em se tratando de animais HZ. No máximo, bastaria recorrer à mamada natural assistida para que esses bezerros alcançassem taxas adequadas de gamaglobulinemia no período neonatal.

Diante das altas concentrações de imunoglobulinas encontradas nas amostras analisadas, também é possível sugerir que não haja justificativa para a avaliação da densidade do colostro através de colostrômetros, pelo menos em se tratando de vacas mestiças HZ múltiparas. Afinal, esse recurso se presta muito mais para evitar que se utilize um colostro de má qualidade do que para selecionar outros pelos teores de imunoglobulinas (GAY & BESSER, 1991).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram concluir que as concentrações de IgG colostrais, em vacas HZ, não são influenciadas pelo grau de sangue e que seus valores médios são bastante superiores aos relatados para animais de raças taurinas puras.

A grande amplitude do intervalo de confiança para a média de IgG não desqualifica o colostro de animais mestiços HZ, já que o seu limite inferior é bastante elevado. Por este motivo, não se justifica o emprego de métodos artificiais de fornecimento do colostro no caso de mestiças HZ.

Finalmente, o nível elevado de IgG observado no colostro sugere que a adoção da prática da mamada natural assistida seja adequada para assegurar que, na maioria das vezes, não haja falha de transferência de imunidade passiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BESSER, T.E., GAY, C.C. Colostral transfer of immunoglobulins to the calf. **Veterinary Annual**, v.33, p.53-61, 1993.
- 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., GAY, C.C. The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.10, p.107-117, 1994.
- BOVINE ALLIANCE ON MANAGEMENT AND NUTRITION. **A guide to colostrum and colostrum management for dairy calves**. Washington, Animal and Plant Health Inspection Service, 17 Dez. 1998. Capturado em 25 de fevereiro de 1999. Online. Disponível na Internet: http://www.aphis.usda.gov:80/vs/ceah/cahm/Dairy_Cattle/ndhep/bamn2.htm.
- BRENNER, J., NERIA, A., ASKENAZY, G., PAZ, R., *et al.* A lactogenic-immune-deficiency syndrome in cows: unexplained phenomenon. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.32, p.315-324, 1992.
- GARRY, F., ADAMS, R., ALDRIDGE, B. Role of colostral transfer in neonatal calf management: current concepts in diagnosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.15, p.1167-1174, 1993.
- GAY, C.C., BESSER, T.E. Colostrum and feeding management of dairy calf during the first two days of life. In: NAYLOR, J.M., RALSTON, S.L. (ed.). **Large animal clinical nutrition**. St. Louis : Mosby Year Book, 1991. p.243-247.
- GUY, M.A., McFADDEN, T.B., COCKRELL, D.C., *et al.* Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.3002-3007, 1994.
- HOPKINS, F.M., DEAN, D.F., GREENE, W. Failure of passive transfer in calves: comparison of field diagnosis methods. **Modern Veterinary Practice**, v.65, p.625-628, 1984.
- JOHNSON, A.M. Immunoprecipitation in gels. In: ROSE, N.R., FRIEDMAN, H., FAHEY, J.L. (eds.). **Manual of clinical laboratory immunology**. 3.ed. Washington : American Society for Microbiology, 1986. p.14-24.
- KRUSE, V. Yield of colostrum and immunoglobulin in cattle at the first milking after parturition. **Animal Production**, v.12, p.619-626, 1970.
- LEVIEUX, D., OLLIER, A. Bovine immunoglobulin G, β -lactoglobulin, α -lactoalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post partum period. **Journal of Dairy Research**, v.66, p.421-430, 1999.
- MORIN, D.E., McCOY, G.C., HURLEY, W.L. Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G₁ absorption in Holstein bull calves. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.747-753, 1997.
- MULLER, L.D., ELLINGER, D.K. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.64, p.1727-1730, 1981.
- NORMAN, L.M., HOHENBOKEN, W.D., KELLEY, K.W. Genetic differences in concentration of immunoglobulins G₁ and M in serum and colostrum of cows and in serum of neonatal calves. **Journal of Animal Science**, v.53, n.6, p.1465-1472, 1981.
- PARISH, S.M. Ruminant immunodeficiency diseases. In: SMITH, B.P. (ed.) **Large animal internal medicine**. 2.ed. St. Louis : Mosby, 1996. p.1857-1860.
- PERINO, L.J. A guide to colostrum management in beef cows and calves. **Veterinary Medicine**, v.92, n.1, p.75-82, 1997.
- PRITCHETT, L.C., GAY, C.C., BESSER, T.E., *et al.* Management and production factors influencing immunoglobulin G₁ concentration in colostrum from Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.2336-2341, 1991.
- QUIGLEY, J.D., MARTIN, K.R., BEMIS, D.A., *et al.* Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of jersey calves. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.893-901, 1995.
- QUIGLEY, J.D. **UT calf notes**. Knoxville : Univ. Tennessee. Institute of Agric, 1997. 16p.
- QUIGLEY, J.D., MATIN, K.R., DOWLEN, H.H., *et al.* Immunoglobulin concentration, specific gravity, and nitrogen fractions of colostrum from Jersey cattle. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.264-269, 1994.
- RADOSTITS, O.M., GAY, C.C., BLOOD, D.C., *et al.* **Veterinary medicine**. 9.ed. Philadelphia : Saunders, 2000. 1877p.
- RADOSTITS, O.M., LESLIE, K.E., FTROW, J. **Heard health: food animal production medicine** 2. ed. Philadelphia : Saunders, 1994. 631p.
- TYLER, J.W., HANCOCK, D.D., PARISH, S.M., *et al.* Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.10, p.304-307, 1996.
- TYLER, J.W., STEEVENS, B.J., HOSTLER, D.E., *et al.* Colostral immunoglobulin concentration in Holstein and Guernsey cows. **American Journal of Veterinary Research**, v.60, n.9, p.1136-1139, 1999.