

Transferência de imunidade passiva em bezerras alimentadas com colostro de vacas com mastite subclínica

Passive immunity transfer in calves fed with colostrum from dams with subclinical mastitis

Renata Freitas Leite¹, Camila Costa Baccili¹, Cynthia Pereira da Costa e Silva¹, Sylvia Marquart Fontes Novo¹, Vinicius Alvim Passos Baldacim¹, Nilson Roberti Benites¹, Viviani Gomes^{1*}

RESUMO: Este trabalho avaliou a influência da infecção bacteriana da glândula mamária (GM) sobre a transferência de imunidade passiva (TIP) em bezerros recém-nascidos. Vacas holandesas (n=13) foram observadas no momento da parição e ordenhadas para a obtenção de forma asséptica das amostras de colostro (n=52) para os testes microbiológicos. Os recém-nascidos receberam 6 litros de colostro de uma ordenha nas primeiras 12 horas de vida, proveniente de suas respectivas mães. Amostras de sangue foram colhidas antes (D0) e após (D2) o manejo do colostro. A TIP foi avaliada por meio de testes bioquímicos, eletroforese e leucograma. Os bezerros foram distribuídos conforme a ausência (IB-) ou presença (IB+) de infecção mamária em pelo menos uma GM de suas respectivas mães. Todas as amostras de colostro (n=52) foram negativas ao cultivo fúngico. Das 13 fêmeas, 8 (61%) apresentaram crescimento bacteriano em ≥ 1 quartos mamários. Considerando-se os quartos mamários, foi obtido isolamento bacteriano em 21,15% (11/52), observando-se predomínio de espécies bacterianas do grupo *Staphylococcus* coagulase negativa. Não foram encontradas diferenças entre os parâmetros de acordo com os grupos experimentais. Em relação aos momentos, foi possível verificar aumento nos valores de proteína total, globulinas, atividade sérica da gama glutamiltransferase e frações eletroforéticas beta e gamaglobulina após a ingestão do colostro materno. A mastite subclínica não influencia a transferência de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos da raça holandesa, avaliados por teste bioquímico, eletroforese e leucograma.

PALAVRAS-CHAVE: eletroforese; testes bioquímicos; leucograma.

ABSTRACT: This study evaluated the influence of intramammary infection under the passive immunity transfer in newborn calves. Holstein cows (n=13) were monitored at delivery, and milked to obtain sterile colostrum samples (n=52) for microbiological examination. The newborn calves received 6 liters of colostrum from their dams up to 12 hours after birth. Blood samples were harvested before (D0) and after (D2) colostrum feeding. The passive immune transfer was evaluated by biochemical tests, electrophoresis and leukogram. Calves were distributed according to absence (IB-) or presence (IB+) of mammary gland infection in one or more quarters. All colostrum samples (n=52) were negative for fungal culture. Eight dams (8; 61%) had bacterial growth in one or more mammary quarter. In relation to mammary gland unit, bacterial growth was observed in 21.15% (11/52) of the colostrum samples, with predominance of coagulase negative staphylococcal infections. Statistical differences were not found among variables according to the groups. According to the experimental moments, the evaluated parameters (total protein, albumin, globulins, GGT and beta and alpha electrophoretic) increased after colostrum intake. Subclinical mastitis did not influence the passive immune transfer in Holstein calves evaluated by biochemical tests, electrophoresis or leukogram.

KEYWORDS: electrophoresis; biochemical tests; leukogram.

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – São Paulo (SP), Brasil.

*Autor correspondente: viviani.gomes@usp.br

Recebido em: 12/01/2015. Aceito em: 04/10/2016

INTRODUÇÃO

A criação de bezerras é a fase crucial do sistema de produção leiteiro, por garantir o crescimento do rebanho e o aumento da produção, no entanto, o sucesso dessa atividade requer a implantação de metas que permitam a sobrevivência, a sanidade e o desenvolvimento dos animais, admitindo-se índices de mortalidade e morbidade inferiores a 5 e 10%, respectivamente, do nascimento ao desmame. Nesse contexto, o manejo do colostro é prioridade máxima, por conta das elevadas taxas de morbidade ($\geq 22\%$) em bezerras com falha da transferência de imunidade passiva (DCHA, 2013).

Bezerras recém-nascidas são agamaglobulinêmicas ao nascimento e necessitam de sucessivas exposições aos patógenos para maturação imune, que se completa na puberdade (KAMPEN *et al.*, 2006). Nesse período, a imunidade passiva adquirida pela ingestão do colostro é fundamental para a proteção dos bovinos jovens nos primeiros meses de vida (BARRINGTON; PARRISH, 2001).

O colostro bovino contém elementos solúveis e celulares biologicamente ativos, sendo a IgG1 o principal componente imune transferido da circulação para a glândula mamária pelo mecanismo seletivo denominado de colostrogênese (WATSON, 1980). Essa imunoglobulina protege os bezerros especialmente pela sua capacidade de opsonização, neutralização e intensificação do mecanismo de citotoxicidade celular dependente de anticorpos (BIBURGER *et al.*, 2014).

O direcionamento do sistema imune da glândula mamária (GM) ao neonato no período de colostrogênese pode ser desfavorável à sua própria proteção (GOMES *et al.*, 2014). O periparto é marcado por elevadas taxas de infecção mamária (NEWMAN *et al.*, 2009), sobretudo aquelas provocadas por *Staphylococcus* coagulase negativa e *Streptococcus agalactiae*. Nesse período, o risco para desenvolvimento de mastite é seis vezes mais elevado do que na lactação. Além disso, a reagudização de processos inflamatórios oriundos da lactação anterior pode ser evidenciada no pós-parto imediato (DINGWELL *et al.*, 2002; RAJALA-SCHULTZ *et al.*, 1999; ODENSTEN *et al.*, 2007).

A presença de bactérias na GM durante o período de colostrogênese resulta em resposta inflamatória com alterações na permeabilidade vascular, extravasamento de proteínas inflamatórias e diapedese de leucócitos polimorfonucleares. A evolução desse processo pode causar a perda de tecido secretor, com impacto no volume e na qualidade do colostro produzido (MAUNSELL *et al.*, 1998).

O impacto da mastite para a saúde e o crescimento das bezerras é pouco conhecido e controverso (FERDOWSI *et al.*, 2009). MAUNSELL *et al.* (1998) encontraram menor volume e massa de IgG 1 no colostro de vacas com mastite, e FERDOWSI *et al.* (2009) verificaram menor concentração de proteína sérica em bezerros de mães com elevada contagem de células somáticas (CCS).

SANTOS *et al.* (2013) não evidenciaram falha na transferência de imunidade passiva (TIP) em bezerras que receberam *pool* de colostro de vacas com mastite assintomática ou sintomática. Observação semelhante foi encontrada por LAVEN *et al.* (2012), que não constataram diferenças na TIP em bezerras nascidas de vacas tratadas ou não com selante de teto no pré-parto, prática adotada para prevenir a mastite durante o período seco.

A importância do manejo do colostro, a elevada incidência de mastite no periparto e a divergência entre os resultados apresentados anteriormente apontam para a realização de estudos para a definição de uma questão prática de manejo aplicável à rotina da criação de bezerras.

A hipótese desta pesquisa foi que a infecção mamária no pós-parto altera a composição do colostro bovino, comprometendo a transferência passiva de fatores imunes aos recém-nascidos. O objetivo desta investigação consistiu em avaliar a influência da infecção bacteriana da glândula mamária no *status* imunitário dos recém-nascidos após a ingestão do colostro.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP) (Protocolo n.º 2.305/11).

Foram selecionadas 13 fêmeas bovinas gestantes da raça holandesa preta e branca e seus respectivos conceptos, distribuídos em dois grupos experimentais conforme os resultados obtidos no exame bacteriológico e micológico do colostro: com infecção em ≥ 1 GM (IB+, n=8) ou sem infecção mamária (IB-, n=5).

As vacas gestantes foram acompanhadas no último mês de gestação e monitoradas a cada duas horas nos períodos diurno e noturno, com o objetivo de separar os bezerros das mães antes da mamada de colostro. Após a parição, as vacas eram encaminhadas para a sala de ordenha para coleta asséptica das amostras de colostro. Inicialmente foi realizada a lavagem dos tetos com solução de hipoclorito a 2%, seguida de secagem com papel toalha individual. Por fim, realizaram-se a desinfecção do teto pela fricção de algodão embebido em solução de álcool 70% e a coleta das amostras pertencentes à fração intermediária de colostro para o exame microbiológico.

A primeira alíquota obtida foi semeada em placas de Petri contendo meio de ágar sangue de carneiro (5%) e ágar Sabouraud, respectivamente mantidas a 37°C por 24 a 72 horas e à temperatura ambiente por 10 dias. As bactérias foram caracterizadas de acordo com as características de cultivo, morfotintoriais e bioquímicas, utilizando *kits* comerciais (RapID™ Staph Plus System, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) (LENNETTE *et al.*, 1985; KRIEG; HOLT, 1994; MURRAY *et al.*, 1999). As culturas consideradas positivas

foram as que apresentaram crescimento de pelo menos três colônias idênticas. Amostras com crescimento de mais de três cepas bacterianas diferentes foram consideradas contaminadas (NMC, 1999).

Os recém-nascidos foram alimentados com seis litros de *pool* de colostro fresco de primeira ordenha, proveniente de suas respectivas mães. Os litros foram divididos em 2 alimentações de 3 litros cada, com intervalo de 6 horas, fornecidos nas primeiras 12 horas de vida.

Obtiveram-se amostras de sangue dos bezerros em tubos com ácido etilenodiamino tetracético (EDTA) e sem anti-coagulante. As coletas das amostras foram feitas antes (D0) e depois da ingestão do colostro (D2).

O número total de leucócitos sanguíneos foi determinado por sistema automatizado (ABC Vet, ABX®, Irvine, CA, EUA), associado à contagem diferencial dos leucócitos por metodologia manual pela diferenciação das células de acordo com o seu padrão morfológico.

A avaliação qualitativa da concentração de imunoglobulinas no sangue dos bezerros foi feita por meio do TSZ, utilizando-se solução de sulfato de zinco ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) a 350 mg/L, segundo procedimentos estabelecidos por HUDGENS *et al.* (1996).

As provas bioquímicas para determinação dos teores de proteína sérica total (PT), albumina (ALB) e atividade sérica da gama glutamiltransferase (GGT) ocorreram em aparelho automático (RX Daytona, Randox®, Dublin, Irlanda), mediante *kits* comerciais, em conformidade com as recomendações do fabricante.

Para o fracionamento das proteínas séricas foi realizada a migração eletroforética em fitas de acetato de celulose, por intermédio das técnicas modificadas de FRIEDMAN (1961) e KREMERS *et al.* (1967). Desenvolveram-se a leitura e

interpretação do fracionamento eletroforético em densitômetro para eletroforese com marcação manual das diferentes frações proteicas (alfaglobulinas, betaglobulinas e gamaglobulinas), e avaliaram-se as curvas geradas segundo KANEKO (2008).

Foi realizada análise descritiva dos resultados obtidos no exame microbiológico do colostro e TSZ do soro. Os demais dados foram testados quanto à aderência à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk, constatando-se que a maioria das variáveis apresentou distribuição normal. Foram calculadas as médias (\pm desvios padrão) dos parâmetros, e detectaram-se as diferenças estatísticas entre os grupos (IB+ e IB-) pelo teste *t* de Student para amostras independentes. A comparação das médias antes da ingestão do colostro (D0) e após (D2) foram determinadas pelo teste *t* de Student para amostras dependentes. Todos os testes foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

Eosinófilos e neutrófilos bastonetes não indicaram distribuição paramétrica. As medianas e quartis estão em gráficos do tipo *boxplot*.

RESULTADOS

Das 13 vacas avaliadas, 8 (61,54%) apresentaram isolamento bacteriano no colostro proveniente de ≥ 1 dos quartos mamários. Destas, a maioria das vacas ($n=6$) apontou crescimento bacteriano em apenas 1 quarto mamário (46,15%) e 2 delas em 2 ou 3 quartos mamários (15,38%). Considerando-se os quartos, foi obtido isolamento bacteriano em 21,15% (11/52) das amostras avaliadas, observando-se predomínio de espécies bacterianas do grupo *Staphylococcus* coagulase negativa

Tabela 1. Espécies bacterianas isoladas do colostro bovino de vacas holandesas no periparto.

Identificação das mães	Quarto mamário	Espécies bacterianas
1.406	AD	<i>S. capitis ss capitis</i> e <i>S. schleiferi</i>
1.288	PE	<i>Staphylococcus warneri</i>
1.265	AE	<i>Staphylococcus hyicus</i>
4.453	AD	<i>S. chromogenes</i> e <i>S. schleiferi</i>
	AE	<i>Streptococcus agalactiae</i>
1.241	AE	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> e <i>Streptococcus dysgalactiae</i>
1.482	AE	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
1.459	AE	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
1.485	PD	<i>S. schleiferi</i> e <i>Staphylococcus chromogenes</i>
	AE	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
	PE	<i>S. schleiferi</i>

AD: quarto anterior direito; PE: quarto posterior esquerdo; AE: quarto anterior esquerdo; PD: quarto posterior direito.

(SCN) (Tabela 1). Não houve crescimento fúngico nas amostras analisadas.

Os bezerros recém-nascidos (12/13) que receberam *pool* de colostro proveniente de GM com ou sem infecção bacteriana demonstraram reação negativa na prova de TSZ antes da ingestão do colostro (D0) e reações positivas em D2, com exceção de apenas um bezerro do grupo IB+, que apresentou prova positiva no D0.

Os resultados obtidos para os dois grupos de bezerros que ingeriram *pool* de colostro proveniente de quartos sem (IB-) ou com infecção mamária (IB+) estão nas Tabelas 2 e 3 e na

Figura 1. Não foi possível detectar diferenças entre os grupos experimentais para os componentes do leucograma, parâmetros bioquímicos ou frações eletroforéticas.

As diferenças entre os momentos antes da mamada de colostro (D0) e após a mamada (D2) para os parâmetros bioquímicos e frações eletroforéticas apresentaram padrão clássico, verificando-se aumento dos teores de proteína total, globulinas, atividade sérica da GGT, beta e gamaglobulinas em 24–48 horas pós-nascimento ($p \leq 0,05$) (Tabela 3). Apenas não se puderam detectar diferenças entre os momentos para os componentes do leucograma (Tabela 2 e Fig. 1).

Tabela 2. Médias e desvios padrão dos componentes do leucograma de bezerras holandesas antes (D0) e depois (D2) da ingestão de colostro oriundo de glândula mamária infectada (IB+) ou não infectada (IB-) com bactérias.

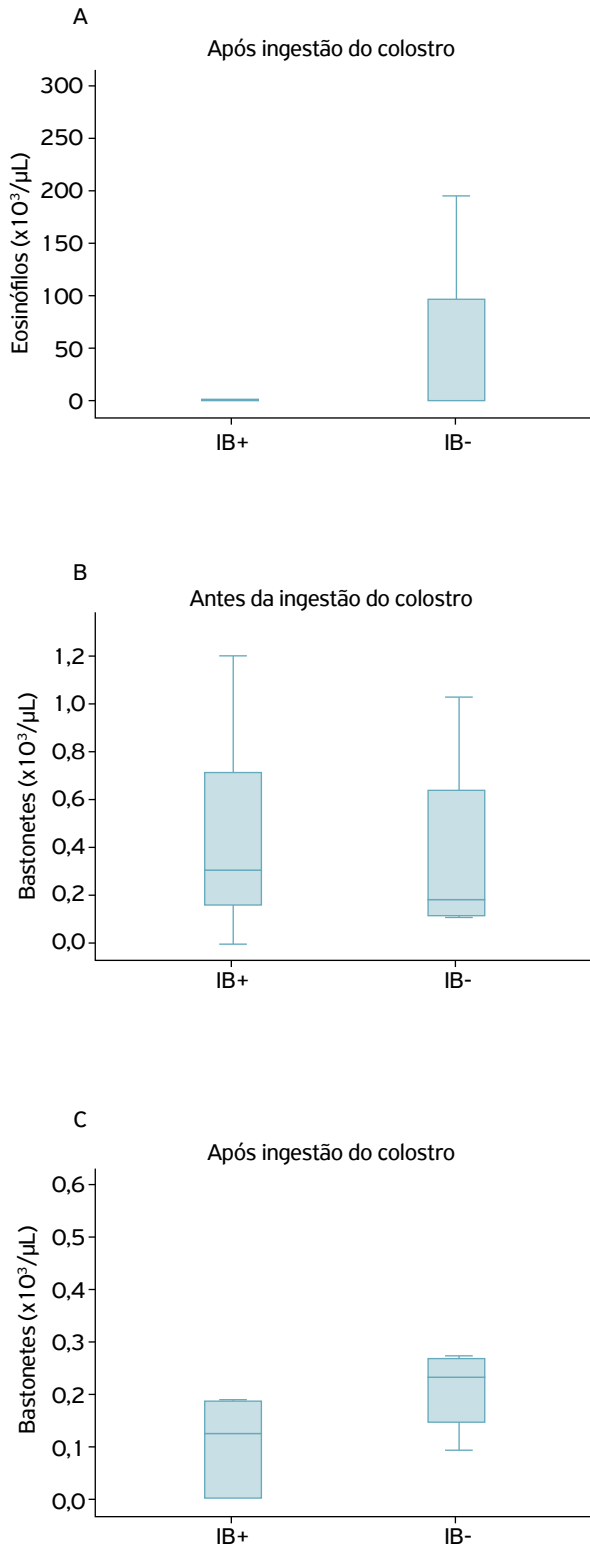
Parâmetros	Momentos	Glândula mamária infectada (média±DP)	Glândula mamária não infectada (média±DP)	Valor p
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	D0	14,85±4,27	15,45±6,86	0,850
	D2	11,47±4,27	16,07±3,13	0,082
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	D0	7,64±3,81	10,77±5,26	0,247
	D2	5,93±3,85	8,65±2,38	0,225
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	D0	1,40±0,61	0,95±0,57	0,208
	D2	1,28±0,99	1,44±1,00	0,788
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	D0	4,13±1,74	2,94±1,27	0,249
	D2	3,88±0,94	5,26±2,84	0,199

DP: desvio padrão; D0: antes da ingestão de colostro; D2: após a ingestão de colostro. Diferenças entre os grupos avaliada pelo teste *t* de Student para amostras independentes ($p \leq 0,05$).

Tabela 3. Médias e desvios padrão dos parâmetros bioquímicos e frações eletroforéticas do soro de bezerras holandesas antes e depois da ingestão de colostro oriundo de glândula mamária infectada (IB+) ou não infectada (IB-) com bactérias.

Parâmetros	Tempos	Glândula mamária infectada (média±DP)	Glândula mamária não infectada (média±DP)	Valor p
Proteína total (g/dL)	D0	4,21±0,25 ^B	4,13±0,83 ^B	0,796
	D2	6,88±0,97 ^A	6,61±0,88 ^A	0,645
Albumina (g/dL)	D0	2,79±0,14 ^A	2,67±0,26 ^A	0,301
	D2	2,45±0,18 ^B	2,33±0,17 ^B	0,310
Globulinas (g/dL)	D0	1,41±0,19 ^B	1,45±0,57 ^B	0,842
	D2	4,43±0,93 ^A	4,27±1,02 ^A	0,797
GGT (U/L)	D0	4,52±3,48 ^B	3,83±2,52 ^B	0,730
	D2	334,37±162,81 ^A	220,96±153,72 ^A	0,264
Albumina (g/dL)	D0	2,19±0,21	1,87±0,20	0,027
	D2	2,05±0,22	1,84±0,12	0,120
Alfaglobulina (g/dL)	D0	1,16±0,15	1,07±0,13	0,357
	D2	1,10±0,09	1,10±0,09	0,972
Betaglobulina (g/dL)	D0	0,62±0,09 ^A	0,54±0,16 ^A	0,259
	D2	1,22±0,24 ^B	1,17±0,09 ^B	0,747
Gamaglobulina (g/dL)	D0	0,21±0,08 ^B	0,62±0,44 ^B	0,016
	D2	2,49±0,73 ^A	2,48±0,73 ^A	0,975

DP: desvio padrão; D0: antes da ingestão de colostro; D2: após a ingestão de colostro. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatísticas pelo teste *t* de Student para amostras dependentes ($p \leq 0,05$). As diferenças entre os grupos foram detectadas pelo teste *t* de Student para amostras independentes ($p \leq 0,05$).



*Outlier. IB+: glândula mamária infectada; IB-: glândula mamária não infectada. Eosinófilos não foram detectados no antes da ingestão de colostro.

Figura 1. Valores medianos para os valores absolutos de eosinófilos e neutrófilos bastonetes antes (D0) e depois (D2) da ingestão de colostro oriundo de glândula mamária infectada (IB+) ou não infectada (IB-) com bactérias.

DISCUSSÃO

A sobrevivência de bezerras nas primeiras semanas de vida depende da imunidade passiva adquirida pela ingestão de colostro materno (BARRINGTON; PARRISH, 2001). O gerenciamento do manejo do colostro inclui a avaliação da sua higiene e qualidade microbiológica, que pode ser afetada pela presença de infecção mamária no pós-parto imediato (FERDOWSI *et al.*, 2009; JOHNSON *et al.*, 2007). Além disso, a ausência de consenso sobre a infecção mamária e a qualidade do colostro motivaram a realização desta pesquisa.

A prevalência de infecção mamária observada aqui foi de 61,40 e 21,15%, nessa ordem, considerando vacas e quartos mamários, causada especialmente por bactérias dos grupos *Staphylococcus coagulase negativa* e *Streptococcus dysgalactiae*, citadas na literatura como os principais patógenos envolvidos com os quadros de mastite manifestados no período de transição (DINGWELL *et al.*, 2002; RAJALA-SCHULTZ *et al.*, 2005; ODENSTEN *et al.*, 2007). Essas bactérias são integrantes da microbiota da pele do aparelho mamário e provavelmente expressam seu potencial de virulência no pós-parto imediato por conta das adaptações fisiológicas, metabólicas e imunológicas ocorridas nessa fase do ciclo produtivo (OLIVER; SORDILLO, 1988; PARK *et al.*, 1992; GOFF; HORST, 1997).

A infecção pela bactéria *Staphylococcus coagulase negativa* da GM em vacas leiteiras durante o periparto é transitória, e a maioria dos animais não desenvolve mastite clínica (SILVA *et al.*, 2014). Esse fato também foi observado na presente investigação, pois não foram relatados quadros ou tratamento de mastite clínica pelo produtor no pós-parto imediato.

Os resultados obtidos no TSZ, nas análises bioquímicas e na eletroforese permitem afirmar que o manejo de colostro adotado foi eficiente para a transferência de imunidade passiva aos neonatos.

A maioria das bezerras apresentou resultados negativos no teste de TSZ antes da ingestão do colostro em razão do *status* hipogamaglobulinêmico dos bezerros ao nascimento, decorrentes da placenta sinepiteliocorial das fêmeas bovinas (BARRINGTON; PARRISH, 2001). Apenas um animal avaliado apresentou reação positiva antes da mamada do colostro (D0), talvez pela infecção durante o período fetal, comumente causada pelo vírus da diarreia viral bovina (MARTIN *et al.*, 2016).

O aumento dos valores de PT, globulinas e frações eletroforéticas após a ingestão do colostro é consensual e ocorre pela passagem de imunoglobulinas provenientes do colostro pelo epitélio intestinal do bovino recém-nascido nas primeiras 24 horas de vida (WATSON, 1980). Os valores obtidos nesta pesquisa, nas provas bioquímicas, foram semelhantes aos encontrados por FEITOSA *et al.* (2001) para proteína total (6,55 g/dL) e albumina (2,61 g/dL) após a ingestão do colostro, porém a atividade sérica da enzima GGT foi menor do que aquela relatada pelo último autor citado (702,45 U/L). Em contrapartida, os valores da atividade sérica da GGT

foram semelhantes aos valores (250–300 U/L) relatados por JEZEK *et al.* (2010). A forma de amamentação e o volume de colostro ingerido pelos bezerros podem explicar as diferenças obtidas. FEITOSA *et al.* (2001) avaliaram bezerros oriundos de diferentes fazendas, as quais provavelmente não adotavam o sistema de mamada controlada. Assim, as bezerras podem ter ingerido maior volume de colostro do que o estabelecido no delineamento experimental desta pesquisa.

Não foi possível observar diferenças entre os grupos de bezerros que ingeriram colostro proveniente de vacas com e sem infecção bacteriana, considerando as provas tradicionalmente empregadas para avaliação da transferência de imunidade passiva. Esse resultado é condizente com os achados de SANTOS *et al.* (2013), que não verificaram FTIP em bezerros com mastite assintomática ou sintomática. A vaca recém-parida geralmente é ordenhada no pós-parto imediato, sendo o *pool* do colostro oriundo dos quartos mamários fornecido aos recém-nascidos. Portanto, a mistura do colostro entre GM híginas e infectadas pode resultar em qualidade imunológica adequadamente suficiente para a transferência dos fatores imunes necessários aos neonatos. É válido ressaltar que a maioria das vacas IB+ desta pesquisa apresentava infecção mamária em apenas um dos quartos, sem manifestação de quadro clínico de mastite.

FERDOWSI *et al.* (2009) encontraram menores concentrações de proteína total em bezerros alimentados com colostro, apresentando elevada CCS. Nesse caso, os referidos autores avaliaram a CCS no *pool* de colostro oferecido aos bezerros, e não amostras individuais. Esta pesquisa não

avaliou o *pool* do colostro, e sim amostras individuais por quartos mamários.

A transferência de células maternas e a influência da infecção mamária mediante a análise do leucograma não puderam ser confirmadas, provavelmente porque se trata de um exame quantitativo e inespecífico, que sofre influência de outros fatores fisiológicos e ambientais aos quais os recém-nascidos são desafiados pós-nascimento (BENESI *et al.*, 2012).

Dessa forma, pôde-se verificar similaridade entre os parâmetros bioquímicos, eletroforéticos e celulares nos grupos de bezerros que receberam colostro de mães sem e com infecção mamária no pós-parto imediato.

CONCLUSÕES

A mastite subclínica não influencia na transferência de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos da raça holandesa, avaliados por teste bioquímico, eletroforese e leucograma.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de bolsa de iniciação científica (Processo FAPESP n.º 2011/20707-6) para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BARRINGTON, G.M.; PARISH, S.M. Bovine neonatal immunology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.17, n.3, p.463-476, 2001.

BENESI, F.J.; TEIXEIRA, C.M.C.; LEAL, M.L.R.; LISBOA, J.A.N.; MIRANDOLA, R.M.S.; SHECAIRA, C.L.; GOMES, V. Leukograms of healthy Holstein calves within the first month of life. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.32, n.4, p.352-356, 2012.

BIBURGER, M.; LUX, A.; NIMMERJAHN, F. How immunoglobulin G antibodies kill target cells: revisiting an old paradigm. *Advances in Immunology*, v.124, p.67-94, 2014.

DCHA – DAIRY CALF & HEIFER ASSOCIATION. *Dairy Calf @ Heifer Association Gold Standards II: production and performance standards established for Holstein calves, from birth to 6 months of age, across the United States*. 2013. v.1. 2p.

DINGWELL, R.T.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; KEEFE, G.P.; DESCOTEAUX, L.; KELTON, F.; LISSEMORE, K.D.; SCHUKKEN, Y.H.; DICK, P.; BAGG, R. The efficacy of intramammary tilmicosin drying-off, and other risk factors for the prevention of new intramammary infections during the dry period. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.3250-3259, 2002.

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

FERDOWSI, E.; NIKKHAH, A.; RAHMANI, H.R.; MOHAMMAD ALIPOUR, M.; GHORBANI, G.R. Increased colostrum somatic cell counts reduce pre-weaning calf immunity, health and growth. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.94, p.628-634, 2009.

FRIEDMAN, H.S. A standardized procedure for serum protein electrophoresis on cellulose acetate membrane strips. *Clinica Chimica Acta*, v.6, p.775-781, 1961.

GOFF, J.P., HORST, R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.1260-1268, 1997.

GOMES, V.; MADUREIRA, K.M.; SORIANO, S.; PONTES, G.N.; SILVA, B.T.; DELLA LIBERA, A.M.M.P.; BENESI, F.J. Release of hydrogen peroxide by phagocytes from bovine colostrums in the peripartum period. *Acta Veterinaria BRNO*, v.83, p.181-185, 2014.

- HUDGENS, K.A.R.; TYLER, J.W.; BESSER, T.E.; KRYTENBERG, D.S. Optimizing performance of a qualitative zinc sulfate turbidity test for passive transfer of immunoglobulin G in calves. *American Journal of Veterinary Research*, v.57, n.12, 1996.
- JEZEK, J., NEMEC, M.; MALOVRH, T.; KLINKON, M. Indicators of passive immunity and health status of calves. *Acta Veterinaria (Beograd)*, v.60, n.5-6, p.513-523, 2010.
- JOHNSON, J.L.; GODDEN, S.M.; MOLITOR, T.; AMES, T.; HAGMAN, D. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.5189-5198, 2007.
- KAMPEN, A.H.; OLSEN, I.; TOLLERSRUD, T.; STORSET, A.K.; LUND, A. Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.113, n.1-2, p.53-63, 2006.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6. ed. New York: Academic Press, 2008. 904p.
- KREMERS, B.; BRIERE, R.O.; BATASAKIS, J.G. Reflectance densitometry of cellulose acetate protein electrophoresis. *American Journal of Medical Technology*, v.33, p.28-34, 1967.
- KRIEG, N.R.; HOLT, J.C. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins Co., 1994. 787p.
- LAVEN, R.R. Effect of use of teatseal ants at drying off on the uptake of colostrum antibodies by calves, as estimated by measuring gamma-glutamyltransferase activity. *New Zealand Veterinary Journal*, v.60, n.1, p.47-49, 2012.
- LENNETTE, E.M.; BALOWS, A.; HANSLER JR, W.J. *Manual of clinical microbiology*. 4. ed. Washington: American Society of Microbiology, 1985. 254p.
- LINDBERG, A.L. Bovine viral diarrhea virus infections and its control: a review. *The Veterinary Quarterly*, v.25, p.1-16, 2003.
- MAUNSELL, F.P.; MORIN, D.E.; CONSTABLE, P.D.; HURLEY, W.L.; MCCOY, G.C.; KAKOMA, I.; ISAACSON, R.E. Effects of mastitis on the volume and composition of colostrum produced by Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.1291-1299, 1998.
- MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. *Manual of clinical microbiology*. 7. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999. 365p.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. *Laboratory handbook on bovine mastitis*. Arlington: National Mastitis Council, 1999. 208p.
- NEWMAN, K.A.; RAJALASCHULTZ, P.J.; LAKRITZ, J.; DEGRAVES, F.J. Lactoferrin concentrations in bovine milk prior to dry-off. *Journal of Dairy Research*, v.76, p.426-432, 2009.
- ODENSTEN, M.O.; BERGLUND, B.; PERSSON WALLER, K.; HOLTENIUS, K. Metabolism and udder health at dry-off in cows of different breeds and production levels. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.1417-1428, 2007.
- OLIVER, S.P.; SORDILLO, L.M. Udder health in the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, v.71, n.9, p.2584-2606, 1988.
- PARK, Y.H.; FOX, L.K.; HAMILTON, M.J.; DAVIS, W.C. Bovine mononuclear leukocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretions during lactation. *Journal of Dairy Science*, v.75, n.4, p.998-1006, 1992.
- RAJALA-SCHULTZ, P.J.; GROHN, Y.T.; McCULLOCH, C.E.; GUARD, C.L. Effects of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.1213-1220, 1999.
- SANTOS, G.G.F.; DESCHK, M.; SILVA, A.K.G.; POLO, T.S.; MARINHO, M.; PEIRÓ, J.R.; MENDES, L.C.N.; FEITOSA, F.L.F. Proteinograma sérico de bezerras recém-nascidos alimentados com colostro de vacas com mastite. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*, v.50, n.3, p.188-197, 2013.
- SILVA, C.P.C.; BALDACIM, V.A.P.; REIS, J.F.; NOVO, S.M.F.; SANTOS, O.; STRICAGNOLO, C.R.; HURLEY, D.J.; GOMES, V. Functional activity of neutrophils CH138+ in bovine colostrum and transition milk through natural exposure to bacterias. In: WORLD BUIATRICS CONGRESS, 27., Cairns, Austrália, 2014. *Resumos*. Cairns, 2014.
- WATSON, D.L. Immunological functions of the mammary gland and its secretion – comparative review. *Australian Journal Biological Science*, v.33, p.403-422, 1980.