

Hemograma e proteínas de fase aguda de bezerros sadios do nascimento aos 30 dias de idade¹

Thaís G. Rocha^{2*}, Ricardo P. Nociti³, Alexandre A.M. Sampaio⁴ e José J. Fagliari⁵

ABSTRACT.- Rocha T.G., Nociti R.P., Sampaio A.A.M. & Fagliari J.J. 2013. [**Hemogram and acute phase proteins of healthy calves from birth to one month old.**] Hemograma e proteínas de fase aguda de bezerros sadios do nascimento aos 30 dias de idade. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(Supl.1):25-31. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brazil. E-mail: thaisgrocha@yahoo.com.br

The knowledge of the dynamic in changes of hematologic parameters and the acute phase proteins kinetics in healthy animals in the first weeks of life is essential for the accurate interpretation of these evaluations in morbidity situations, and to reliably differentiate healthy from sick animals. The aim of the study was to evaluate the dynamic of these parameters in the first month of life of healthy beef calves, born from primiparous or multiparous cows, and so blood samples were collected before colostrum intake and 1, 2, 7, 15 and 30 days thereafter to evaluate hemogram and serum proteinogram. The red cell parameters were influenced by the parturition number of cows, and the leukogram showed characteristic changes of the release of fetal cortisol at birth. The total protein level significantly increased after colostrum intake. The concentrations of acute phase proteins ceruloplasmin, haptoglobin and proteins of molecular weight 33 kDa and 23 kDa significantly increased in the first day of life, influenced either by response to birth or colostrum intake, while the levels of transferrin, albumin and α_1 -acid glycoprotein were relatively stable in the first days, increasing gradually until 30 days of life.

INDEX TERMS: Cattle, newborn, hematology, acute phase proteins, SDS-PAGE.

RESUMO.- O conhecimento da dinâmica das alterações nos parâmetros hematológicos e na cinética das proteínas de fase aguda em animais saudáveis nas primeiras semanas de vida é essencial para a interpretação correta dessas avaliações em situações de morbidez e para diferenciar animais

sadios e enfermos de forma confiável. Com o intuito de avaliar a cinética desses parâmetros no primeiro mês de vida de bezerros de corte sadios, filhos de vacas primíparas ou pluríparas, amostras de sangue foram coletadas antes da ingestão de colostro e 1, 2, 7, 15 e 30 dias após o nascimento. Os parâmetros eritrocitários foram influenciados pelo número de partos das vacas e o leucograma mostrou alterações características de influência do cortisol fetal liberado por ocasião do nascimento. O teor sérico de proteína total aumentou significativamente após a ingestão do colostro. As concentrações de ceruloplasmina, haptoglobina e proteínas de pesos moleculares 33 kDa e 23 kDa aumentaram significativamente no primeiro dia de vida, seja pela resposta ao nascimento ou pela ingestão do colostro, enquanto os teores de transferrina, albumina e α_1 -glicoproteína ácida mantiveram-se relativamente estáveis nos primeiros dias de vida, aumentando gradualmente até os 30 dias de idade.

¹ Recebido em 9 de setembro de 2013.

Aceito para publicação em 21 de novembro de 2013.

² Pós-Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Jaboticabal, Rua São Sebastião 574, apto 74, Centro, Jaboticabal, SP 14870-720. *Autor para correspondência: thaisgrocha@yahoo.com.br

³ Pós-Graduando do Curso de Medicina Veterinária, FCAV-Unesp, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900. E-mail: rnociti@gmail.com

⁴ Docente do Departamento de Zootecnia, FCAV-Unesp, Jaboticabal, SP. E-mail: sampaio@fcav.unesp.br

⁵ Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV-Unesp, Jaboticabal, SP. E-mail: fagliari@fcav.unesp.br

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Bovinos, neonatos, hematologia, proteínas de fase aguda, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

Os parâmetros hematológicos e bioquímicos de bezerros passam por alterações fisiológicas importantes em adaptação à vida extrauterina, cuja natureza complexa dificulta a diferenciação entre os eventos normais e aqueles ocasionados por processos mórbidos. Ademais, os intervalos de referência verificados na literatura, em sua maioria, referem-se a animais adultos e podem induzir a erro se aplicados a animais jovens, em razão da natureza dinâmica das variáveis associadas ao processo normal de crescimento (Adams et al. 1992, Knowles et al. 2000).

Entre os eventos importantes que imprimem diferenças entre os perfis hematológicos de animais jovens e adultos, o aumento da concentração plasmática de cortisol por ocasião do nascimento influencia o leucograma de bezerros, determinando variações importantes na contagem diferencial de leucócitos, que devem ser conhecidas para melhor avaliação clínica de animais saudáveis e enfermos (Cole et al. 1997b). Também, a ingestão do colostro, essencial para a sobrevivência e desempenho de neonatos ruminantes, ocasiona alterações importantes no perfil bioquímico de bezerros jovens e deve ser considerada um marco fisiológico na avaliação hematológica desses animais.

O hemograma é uma ferramenta de avaliação importante uma vez que, quando correlacionado ao exame clínico, pode fornecer informação relevante de baixo custo quanto à natureza e evolução da enfermidade (Cole et al. 1997b). Associado a ele, a avaliação do teor de proteínas de fase aguda, produzidas pelos hepatócitos na fase aguda da resposta inflamatória, constitui um método promissor de triagem de rebanhos para diferenciação de animais que apresentam doença clínica ou subclínica (Orro et al. 2008). Dentre as técnicas disponíveis para realização do proteinograma, a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) apresenta como vantagem a possibilidade de identificação e quantificação de maior número de proteínas específicas, como ceruloplasmina, α_1 -antitripsina, transferrina, haptoglobina e α_1 -glicoproteína ácida (Alsemgeest et al. 1995, Fagliari et al. 2006).

O ganho de peso de animais jovens também constitui uma forma interessante de verificação do estado de saúde, uma vez que a ocorrência de enfermidades é um empecilho ao desempenho, principalmente pela redução na ingestão de alimentos ou pelas perdas ocasionadas por diarreia e doenças respiratórias, ocorrências comuns em bezerros nas primeiras semanas de vida.

O objetivo do estudo foi avaliar o hemograma e o perfil sérico de proteínas de fase aguda de bezerros de corte saudáveis e a influência do número de partos no peso dos bezerros, filhos de vacas primíparas ou pluríparas, do nascimento aos 30 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 13 bezerros filhos de vacas primíparas (Grupo B1) e 13 filhos de vacas pluríparas (Grupo B2) da raça Canchim, frutos de acasalamento com touro da raça Nelore, clinicamente

sadios, pertencentes ao rebanho do Setor de Bovinocultura de Corte da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal. O protocolo experimental empregado foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética e Bem-estar Animal da FCAV/Unesp/Campus de Jaboticabal (Protocolo nº 009793-08).

As vacas foram pesadas imediatamente após o parto e os bezerros foram pesados ao nascimento e aos 30 dias de idade. O ganho de peso diário dos bezerros foi calculado dividindo-se a diferença entre os pesos registrados ao nascimento e aos 30 dias de vida pelo número de dias decorridos entre as aferições (30).

Amostras de sangue foram coletadas de cada bezerro mediante venopunção jugular em seis momentos: antes da ingestão do colostro e 1, 2, 7, 15 e 30 dias após o nascimento, usando-se tubos a vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson) com o anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), para o hemograma, e sem anticoagulante para a realização das avaliações bioquímicas e o proteinograma. As amostras de sangue sem anticoagulante foram centrifugadas a 1.000xg durante 10 minutos, obtendo-se alíquotas de 1,5mL de soro que foram armazenadas em tubos previamente identificados, à temperatura de -18°C, até o momento das análises.

De cada amostra de sangue coletada com anticoagulante foram realizadas contagens de hemácias e leucócitos e determinado o teor de hemoglobina, em aparelho semi-automático (CC-530, CELM). O volume globular foi obtido pela técnica do microematócrito e a contagem diferencial de leucócitos foi realizada a partir da contagem de 100 células em esfregaço sanguíneo corado (Thrall 2007). Os índices hematimétricos volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM) foram calculados com base em fórmulas matemáticas, também recomendadas por Thrall (2007).

Avaliou-se o teor de proteína total sérica (método do biureto) utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest, Labtest Diagnóstica) e as leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semiautomático (Labquest, Labtest Diagnóstica) com luz de comprimento de onda apropriado para o teste. Para o fracionamento proteico em SDS-PAGE foi utilizada a técnica proposta por Laemmli (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301) e como referência foi utilizada solução marcador com diferentes pesos moleculares, bem como as proteínas purificadas ceruloplasmina, α_1 -antitripsina, haptoglobina, IgG bovina e transferrina (Sigma).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey para comparação entre médias, ao nível de significância de 5%, utilizando-se o programa AgroEstat 1.0 (Barbosa & Maldonado Júnior 2010). Empregou-se, também, o teste de correlação de Pearson entre algumas das variáveis, também ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso das vacas no dia do parto diferiu significativamente entre os grupos (Quadro 1) e notou-se correlação positiva significativa com o peso dos bezerros ao nascimento ($r=0,55$; $p<0,01$) e aos 30 dias de idade ($r=0,58$; $P<0,01$). Também, foi verificada correlação positiva entre os pesos dos bezerros ao nascimento e aos 30 dias de idade ($r=0,59$; $p<0,01$). Já o ganho de peso apresentou correlação positiva significativa apenas com o peso dos bezerros aos 30 dias de idade ($r=0,65$; $p<0,01$).

A influência do peso ao nascimento no peso aos 30 dias de idade e a ausência de significância na correlação entre o ganho de peso e o peso ao nascimento também

Quadro 1. Média e erro padrão do peso das vacas Canchim primíparas (V1) e pluríparas (V2) imediatamente após o parto, peso dos bezerros filhos de vacas primíparas (B1) e pluríparas (B2) imediatamente após o nascimento e aos 30 dias de idade e ganho de peso diário médio dos bezerros no primeiro mês de vida

Parâmetro	V1/B1	V2/B2
Peso da vaca (kg)	468±27,0b	588±40,4a
Peso do bezerro ao nascimento (kg)	35,0±3,26b	42,4±2,65a
Peso do bezerro aos 30 dias (kg)	60,8±3,46b	71,6±3,75a
Ganho de peso médio/dia (kg)	0,86±0,15a	0,97±0,09a

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

foram constatados por Pauletti et al. (2002). Gregory et al. (1950) verificaram correlação de 0,21 entre o peso de bezerros ao nascimento e o peso de vacas imediatamente após o parto, valor bem mais baixo do que o verificado na pesquisa em pauta. Tais autores afirmaram que há influência significativa do peso da vaca no peso das crias e que os bezerros que nasceram mais pesados tenderam a manter essa vantagem, o que corrobora os resultados do presente estudo.

A contagem de hemácias, o teor de hemoglobina e o volume globular foram significativamente inferiores nos bezerros filhos de vacas primíparas, quando comparados àqueles de filhos de vacas pluríparas, no decorrer do período experimental (Quadro 2).

A contagem de hemácias permaneceu no intervalo de referência considerado normal para a espécie bovina (Radostits et al. 2002), em ambos os grupos, à semelhança da constatação de Fagliari et al. (1998) em bezerros jovens das raças Nelore e Holandesa. A redução da contagem de hemácias na primeira semana de vida, já relatada por outros autores (Adams et al. 1992, Jain 1993, Cole et al. 1997a), provavelmente decorre da expansão do volume plasmático após a ingestão do colostro, destruição de eritrócitos fetais, medula óssea menos ativa em bezerros, tempo de vida mais curto dos eritrócitos e concentração menor de eritropoietina circulante (Adams et al. 1992, Jain 1993). É interessante ressaltar que Benesi et al. (2012b), não verificaram redução da contagem de hemácias ao avaliarem bezerras saudáveis da raça Holandesa no intervalo entre até 8 horas após o nascimento e 7 dias de idade, e sugeriram que esse fato foi influenciado pelo momento de coleta das amostras, na maioria das vezes após a ingestão do colostro. O volu-

Quadro 2. Média e erro padrão de parâmetros hematológicos de bezerros de corte filhos de vacas primíparas (B1) e pluríparas (B2), antes da ingestão de colostro (0) e 1, 2, 7, 15 e 30 dias após o nascimento

Grupo	Momentos após o nascimento (dias)					
	0	1	2	7	15	30
Hemácias(x106/ μ L)						
B1	8,16±0,55 ^{Bab}	7,55±0,54 ^{Bbc}	7,56±0,58 ^{Bbc}	6,85±0,41 ^{Bc}	7,88±0,50 ^{Bab}	8,51±0,44 ^{Ba}
B2	9,46±0,41 ^{Aab}	8,65±0,37 ^{Ab}	8,75±0,40 ^{Ab}	8,83±0,56 ^{Aab}	9,35±0,61 ^{Aab}	9,58±0,69 ^{Aa}
Hemoglobina (g/dL)						
B1	13,0±1,10 ^{Ba}	12,1±1,04 ^{Bab}	11,9±0,98 ^{Bab}	11,4±0,7 ^{Bb}	12,8±0,56 ^{Ba}	12,8±0,67 ^{Ba}
B2	15,3±0,59 ^{Aa}	14,2±0,78 ^{Ab}	14,3±0,70 ^{Aab}	14,3±0,87 ^{Aab}	15,1±0,65 ^{Aab}	15,0±0,61 ^{Aab}
Volume Globular (%)						
B1	42,0±2,94 ^{Ba}	37,8±2,97 ^{Bbc}	36,8±3,04 ^{Bcd}	34,6±1,99 ^{Bd}	39,7±1,63 ^{Babc}	40,7±1,77 ^{Bab}
B2	49,3±1,70 ^{Aa}	44,5±2,49 ^{Ab}	43,5±2,28 ^{Ab}	43,2±2,82 ^{Ab}	45,4±2,46 ^{Ab}	45,4±1,66 ^{Ab}
Volume globular médio (fL)						
B1	51,6±2,46 ^{Aa}	50,2±1,70 ^{Aab}	48,9±2,55 ^{Aab}	50,8±2,44 ^{Aab}	50,9±3,04 ^{Aab}	48,1±2,30 ^{Ab}
B2	52,4±2,33 ^{Aa}	51,6±2,30 ^{Aa}	49,8±1,83 ^{Aab}	49,1±2,32 ^{Aab}	49,1±3,41 ^{Aab}	48,0±2,92 ^{Ab}
Concentração de hemoglobina globular média (g/dL)						
B1	30,9±0,55 ^{Ab}	31,8±0,54 ^{Aab}	32,2±0,52 ^{Aab}	32,7±0,52 ^{Aa}	32,1±0,55 ^{Aab}	31,6±1,59 ^{Bab}
B2	31,1±0,63 ^{Ab}	31,8±1,00 ^{Aab}	32,8±0,65 ^{Aab}	33,2±1,29 ^{Aa}	33,3±1,03 ^{Aa}	33,0±0,59 ^{Aa}
Hemoglobina globular média (pg)						
B1	15,9±0,77 ^{Aab}	15,9±0,61 ^{Aab}	15,8±0,83 ^{Aab}	16,6±0,81 ^{Aa}	16,3±0,99 ^{Aa}	15,1±0,83 ^{Ab}
B2	16,3±0,65 ^{Aa}	16,4±0,70 ^{Aa}	16,3±0,54 ^{Aa}	16,3±0,80 ^{Aa}	16,3±0,96 ^{Aa}	15,9±0,99 ^{Aa}
Leucócitos totais (x103/ μ L)						
B1	9,40±1,31 ^{Aa}	8,99±1,73 ^{Aa}	7,52±1,02 ^{Aa}	9,56±1,14 ^{Aa}	8,27±0,98 ^{Ba}	9,48±1,72 ^{Aa}
B2	11,05±1,71 ^{Aa}	10,55±1,36 ^{Aa}	9,47±1,30 ^{Aa}	9,98±0,69 ^{Aa}	10,89±1,18 ^{Aa}	11,25±1,13 ^{Aa}
Eosinófilos (/ μ L)						
B1	18±32,5 ^{Aa}	119±86,5 ^{Aa}	108±61,5 ^{Aa}	49±41,0 ^{Aa}	65±66,5 ^{Aa}	98±56,0 ^{Aa}
B2	9±15,5 ^{Ab}	108±50,0 ^{Aab}	33±22,0 ^{Aab}	17±20,5 ^{Ab}	28±21,5 ^{Aab}	129±75,5 ^{Aa}
Neutrófilos segmentados (/ μ L)						
B1	6.488±1.136 ^{Aa}	5.777±1.442 ^{Aab}	4.131±728 ^{Abc}	4.499±1.035 ^{Aabc}	3.362±827 ^{Ac}	3.105±1.291 ^{Ac}
B2	6.925±1.815 ^{Aa}	6.451±1.151 ^{Aab}	5.626±1.236 ^{Aabc}	4.145±494 ^{Abc}	4.209±1.021 ^{Abc}	3.842±728 ^{Ac}
Linfócitos (/ μ L)						
B1	2.782±589 ^{Bc}	3.021±450 ^{Ac}	3.211±451 ^{Ac}	4.902±534 ^{Ab}	4.747±534 ^{Bb}	6.190±833 ^{Aa}
B2	3.985±587 ^{Ac}	3.860±530 ^{Ac}	3.693±448 ^{Ac}	5.724±692 ^{Ab}	6.572±747 ^{Aab}	7.166±920 ^{Aa}

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

me globular maior ao nascimento, seguido de redução nos momentos subsequentes, corrobora o relatado por Brun-Hansen et al. (2006), que também constataram redução do volume globular nas primeiras semanas de vida. Segundo Tennant et al. (1974) e Adams et al. (1992), a contagem de eritrócitos, a concentração de hemoglobina e o volume globular, em geral, são maiores ao nascimento, com menor contagem de hemácias aos 7 dias de idade.

Kume & Tanabe (1993) verificaram que a concentração de hemoglobina e o volume globular de bezerros neonatos aumentaram significativamente com o aumento do número de lactações de suas mães. Esses parâmetros decresceram 1 a 6 dias após o nascimento em bezerros filhos de vacas primíparas. No entanto, no presente estudo, esse comportamento foi verificado tanto nos animais do grupo B1 quanto naqueles do grupo B2. Essas referências foram as únicas encontradas na literatura que compararam parâmetros hematológicos em bezerros filhos de vacas com diferentes números de lactações.

Não se constatou diferença no VGM e no HGM entre os grupos no decorrer do período experimental, e o CHGM diferiu entre os grupos apenas aos 30 dias de vida, quando foi superior nos bezerros do grupo B2 (Quadro 2). Os valores dessas três variáveis mantiveram-se no intervalo de referência para a espécie (Jones & Allison 2007). A redução do VGM, com valores maiores ao nascimento e menores aos 30 dias de idade, verificada em ambos os grupos experimentais, também foi relatada por outros autores (Harvey 1990, Mohri et al. 2007; Benesi et al. 2012b), e pode ser explicada pelo fato de que o neonato possui eritrócitos grandes de origem fetal, que são substituídos por células de menor tamanho com o avançar da idade (Jain 1993).

A contagem de leucócitos totais diferiu entre os grupos apenas aos 15 dias de idade, quando foi menor nos bezerros do grupo B1 (Quadro 2). Fagliari et al. (1998) e Mohri et al. (2007) constataram tendência à redução nos valores de leucócitos a partir do nascimento, o que difere de nossos achados. A contagem de leucócitos se manteve nos limites de referência para a espécie, diferindo do relatado por Knowles et al. (2000), que verificaram contagem de leucócitos totais ao nascimento acima dos valores de referência para animais adultos da espécie bovina.

Verificou-se a presença de basófilos apenas em alguns momentos, com valores que variaram de 54 a 85 células/ μL , em bezerros do grupo B1, e de 25 a 105 células/ μL , em animais do grupo B2. Em ruminantes normais, os basófilos estão presentes em número pequeno e, com frequência, não são encontrados nas contagens diferenciais (Jones & Allison 2007). A contagem de eosinófilos em ambos os grupos foi muito variável, não sendo notada, no entanto, diferença entre eles (Quadro 2). A presença de eosinófilos pode ser incomum ao nascimento, presumivelmente em razão da presença de alto teor de cortisol, mas tende a aumentar com o avançar da idade (Adams et al. 1992, Jain 1993). Não foi verificada diferença significativa na contagem de neutrófilos bastonetes entre os grupos ou entre os momentos, e os valores variaram de 43 a 423 células/ μL , nos animais do grupo B1 e de 73 a 768 células/ μL , naqueles do grupo B2. Adams et al. (1992) verificaram a presença de neutrófi-

los bastonetes em percentual crescente entre o nascimento e 48 horas de vida de bezerros, diferentemente do que foi constatado no presente estudo. Não foi constatada diferença na contagem de monócitos entre grupos ou momentos. Os valores variaram de 45 a 300 células/ μL , nos bezerros do grupo B1, e de 73 a 320 células/ μL nos animais do grupo B2. A contagem de monócitos não aumentou com a idade, diferente do relatado por Fagliari et al. (1998) e Brun-Hansen et al. (2006).

A contagem de linfócitos verificada nos bezerros do B1 ao nascimento e aos 15 dias de idade foi inferior àquela dos animais do B2. Notou-se aumento na contagem deste tipo celular a partir do nascimento, com os valores máximos aos 30 dias de idade em ambos os grupos (Quadro 2), corroborando com os achados de Mohri et al. (2007) e Benesi et al. (2012a).

Não se constatou diferença na contagem de neutrófilos segmentados entre os grupos no decorrer do período experimental (Quadro 2). A redução gradativa na contagem desse tipo celular até os 30 dias de vida corrobora os achados de Fagliari et al. (1998), Mohri et al. (2007) e Benesi et al. (2012a).

Neutrofilia e relação neutrófilo:linfócito (N:L) alta também são verificadas em bezerros clinicamente normais ao nascimento. A contagem de neutrófilos e a razão N:L acompanham a tendência verificada no teor de cortisol plasmático, alto ao nascimento e que diminui rapidamente nas primeiras 12 horas de vida e, então, mais gradualmente no decorrer dos próximos 12 dias (Ebehart & Patt 1971). Verificou-se que a razão N:L normal, que em bovinos adultos é considerada como 1:2, foi de, aproximadamente, 2:1 ao nascimento, e decresceu gradualmente até 0,5:1 aos 30 dias de idade, em ambos os grupos (Ebehart & Patt 1971, Cole et al. 1997b). Constatou-se a ocorrência de leucograma de estresse, caracterizado principalmente por neutrofilia madura com linfopenia, monocitopenia e ausência de eosinófilos, típico de bezerros ao nascimento em razão da concentração alta de cortisol liberado pela adrenal fetal por ocasião do parto (Cole et al. 1997b).

Notou-se diferença no teor sérico de proteína total entre os grupos do primeiro ao sétimo dias de idade; as concentrações verificadas nos bezerros do grupo B1 foram significativamente inferiores àquelas do grupo B2 (Quadro 3). O teor sérico de proteína total ao nascimento encontrava-se abaixo dos valores de referência para a espécie bovina em ambos os grupos (Kaneko et al. 2008), concordando com os achados de Knowles et al. (2000). O teor sérico de proteína total em bezerros, normalmente abaixo de 5g/dL ao nascimento, aumenta após a ingestão e absorção do colostro e esse valor é estável nos próximos 2 meses (Adams et al. 1992, Schalm et al. 1970). Clinicamente, a proteinemia de bezerros com 24 horas de vida é útil como indicador de transferência de imunidade humoral passiva (Cole et al. 1997a). Costa et al. (2008) não verificaram influência do número de parições de vacas das raças Nelore e Limousin nos teores de proteína total.

A concentração de ceruloplasmina aumentou gradativamente a partir do nascimento, sendo significativamente inferior nos animais do grupo B1 aos 7 dias de idade (Quadro

Quadro 3. Média e erro padrão de frações proteicas séricas de bezerros de corte filhos de vacas primíparas (B1) e pluríparas (B2), antes da ingestão de colostro (0) e 1, 2, 7, 15 e 30 dias após o nascimento

Grupo	Momentos após o nascimento (dias)					
	0	1	2	7	15	30
	Proteína total (g/dL)					
B1	3,98±0,14Ac	6,78±0,44Ba	6,88±0,45Ba	6,58±0,43Bab	6,37±0,27Aab	6,05±0,20Ab
B2	4,26±0,13Ae	7,75±0,53Aab	7,77±0,56Aa	7,23±0,45Abc	6,85±0,33Ac	6,30±0,20Ad
	Ceruloplasmina (mg/dL)					
B1	6,62±2,50Ac	14,3±3,00Abc	18,8±4,50Ab	32,8±7,50Ba	34,5±6,50Aa	35,8±8,00Aa
B2	6,86±1,50Ac	22,7±5,00Ab	27,6±6,00Ab	46,1±8,50Aa	46,8±9,00Aa	43,8±7,50Aa
	Transferrina (mg/dL)					
B1	190±33,8Ac	225±27,0Ac	293±22,5Ab	473±59,5Aa	485±37,0Aa	444±46,5Aa
B2	234±22,4Ac	246±20,0Ac	328±27,0Ab	425±43,0Aa	447±28,0Aa	426±33,0Aa
	Albumina (mg/dL)					
B1	3.086±165Ab	3.297±115Ab	3.393±162Ab	3.794±462Aa	3.762±125Aa	3.883±115Aa
B2	3.284±112Ab	3.574±116Aab	3.588±126Aab	3.746±141Aa	3.829±112Aa	3.824±98,0Aa
	Haptoglobina (mg/dL)					
B1	3,32±1,58Ad	9,12±2,15Ac	13,8±2,42Aab	14,7±3,76Aa	10,3±1,93Bbc	11,6±2,01Aab
B2	4,38±1,85Ab	12,2±2,12Aa	14,6±2,31Aa	12,9±2,37Aa	15,8±1,97Aa	12,3±1,38Aa
	α1-Glicoproteína ácida (mg/dL)					
B1	9,67±1,25Aab	7,88±2,04Bab	6,76±1,41Ab	11,4±3,24Aa	10,7±1,98Aab	11,6±2,19Aa
B2	11,1±2,78Aa	11,7±3,43Aa	9,85±1,95Aa	11,4±2,23Aa	12,5±2,29Aa	11,8±2,44Aa
	PM 33.000 Da (mg/dL)					
B1	4,20±3,47Ab	20,4±4,29Ba	20,1±4,11Ba	19,9±7,15Aa	16,1±3,35Aa	15,0±4,17Aa
B2	0,74±0,84Ad	35,8±9,50Aa	32,2±8,45Aab	26,0±6,40Abc	23,2±5,00Ac	21,7±3,72Ac
	PM 23.000 Da (mg/dL)					
B1	25,6±4,42Ac	72,7±9,40Abc	115±7,50Ab	248±30,4Aa	239±27,0Ba	250±31,6Ba
B2	28,4±3,56Ae	93,9±13,6Ad	145±16,0Ac	227±48,0Ab	313±36,9Aa	331±23,4Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

3). As maiores concentrações dessa proteína foram constatadas aos 30 dias de idade nos bezerros do grupo B1, com um aumento de 5,41 vezes em relação às concentrações verificadas ao nascimento e aos 15 dias de vida, e nos animais do grupo B2, quando se constatou aumento de 6,82 vezes em relação ao nascimento. A ceruloplasmina é uma proteína de fase aguda de atividade moderada em bovinos e está envolvida no metabolismo do ferro (Eckersall 2008).

Não foi verificada diferença entre os grupos quanto à concentração de transferrina (Quadro 3) e seu teor aumentou gradativamente a partir do nascimento, aparentemente sem influência do parto e/ou da ingestão de colostro, com valor mínimo ao nascimento e máximo aos 15 dias de idade, em ambos os grupos. Fagliari et al. (2007) relataram concentração de transferrina de $265\pm 19,5$ mg/dL em bezerros da raça Holandesa saudáveis, tendo sido verificadas concentrações semelhantes nos animais do presente estudo, do nascimento aos 2 dias de idade. A transferrina é uma proteína de fase aguda negativa transportadora de ferro, cujo valor diagnóstico está relacionado à avaliação de enfermidades que interferem no metabolismo deste elemento (Eckersall 2008).

O teor sérico de albumina não diferiu significativamente entre os grupos, verificando-se aumento gradativo a partir do nascimento, com valor máximo aos 30 dias de idade (Quadro 3). A albumina, importante proteína sérica, é uma proteína de fase aguda negativa, cuja concentração reduz gradualmente e de forma mais evidente nas doenças inflamatórias crônicas, em razão da síntese preferencial de

globulinas e outras proteínas pelos hepatócitos (Eckersall 2008).

Foi constatada maior concentração sérica de haptoglobina nos animais do grupo B2 aos 15 dias de idade, quando comparada àquela dos bezerros do B1 (Quadro 3). Alsemeest et al. (1995), avaliando os teores de haptoglobina aferidos pelo método de ensaio de ligação com a hemoglobina em bezerros nascidos naturalmente ou por parto assistido 10 minutos após o nascimento, verificaram que as concentrações dessa proteína estavam abaixo do limiar de detecção da técnica empregada, diferentemente do verificado empregando-se a técnica de eletroforese em gel de poliácridamida (SDS-PAGE). A determinação da concentração de haptoglobina é útil no monitoramento da presença e gravidade de inflamações agudas em bovinos, alcançando concentrações proporcionais à lesão tecidual (Ganheim et al. 2007, Eckersall 2008). A liberação de glicocorticoides também está associada a aumento do teor plasmático dessa proteína, condição verificada durante lipidose hepática, parto e estresse (Higuchi et al. 1994, Uchida et al. 1993).

Fagliari et al. (2007) verificaram teores de haptoglobina de $32,3\pm 4,0$ mg/dL em bezerros saudáveis da raça Holandesa com 6 a 12 meses de idade, valores superiores aos notados nos animais do presente experimento. A manutenção de concentrações baixas de haptoglobina nos bezerros dos grupos B1 e B2 no primeiro mês de vida, associado à ausência de manifestações clínicas e de resposta leucocitária, permite concluir que esses animais não foram acometidos por processos mórbitos no período de estudo.

Verificou-se concentração sérica de α_1 -glicoproteína ácida maior nos bezerros do B2 um dia após o nascimento, quando comparado àquela do B1 (Quadro 3). Embora o papel preciso da α_1 -glicoproteína ácida não seja totalmente conhecido, na maioria das espécies ela é considerada uma proteína de fase aguda, cuja concentração aumenta mais lentamente, porém permanece elevada por mais tempo. Dessa maneira, sua determinação pode ser útil no estabelecimento da evolução aguda ou crônica da enfermidade (Eckersall 2008).

Segundo Orro et al. (2008), a ingestão de colostro é o fator externo que mais provavelmente causa alterações temporais na concentração das proteínas de fase aguda em bezerros neonatos.

Notou-se diferença entre os grupos quanto ao teor da proteína de peso molecular 33.000 Da, um e dois dias após o nascimento, quando as concentrações verificadas no grupo B1 foram inferiores àquelas dos animais do grupo B2 (Quadro 3). Verificou-se aumento de 4,9 e 48 vezes (B1 e B2, respectivamente) na concentração desta proteína após a ingestão do colostro. Considera-se essa proteína de interesse em razão do aumento significativo de sua concentração após a ingestão do colostro e pelo fato de seus teores permanecerem relativamente estáveis nos demais momentos avaliados. Mais estudos são necessários para a correta identificação desta proteína e para esclarecimentos quanto à sua função.

O teor sérico da proteína de peso molecular 23.000 Da foi significativamente inferior nos animais do grupo B1 aos 15 e 30 dias de idade, quando comparado àquela do B2 (Quadro 3). Notou-se aumento gradativo nas concentrações desta proteína em ambos os grupos no decorrer do período experimental, com valores máximos verificados aos 30 dias de idade. Considerou-se interessante o fato do teor dessa proteína ser baixo antes da ingestão do colostro, aumentando gradativamente após o nascimento e chegando à concentração máxima aos 30 dias de vida.

CONCLUSÕES

Os parâmetros eritrocitários e o teor de proteína total foram influenciados pelo número de parições das vacas, enquanto a cinética do leucograma foi característica da fase neonatal.

As cinéticas de ceruloplasmina, haptoglobina e das proteínas de pesos moleculares 33 kDa e 23 kDa foram influenciadas pela ingestão de colostro e/ou pelo nascimento, enquanto os teores de transferrina, albumina e α_1 -glicoproteína ácida permaneceram estáveis nos primeiros dias de vida.

Agradecimentos.- Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro e pelas bolsas de pesquisa concedidas.

REFERÊNCIAS

- Adams R., Garry F.B., Aldridge B.M., Holland M.D. & Odde K.G. 1992. Hematologic values in newborn beef calves. *Am. J. Vet. Res.* 53:944-950.
- Alsemgeest S.P.M., Jonker F.H., Taverne M.A.M., Kalsbeek H.C., Wensing Th. & Gruys E. 1995. Serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (HP) plasma concentrations in newborn calves. *Theriog.* 43:381-387.
- Barbosa J.C. & Maldonado Junior W. 2010. AgroEstat - Sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos, versão 1.0.
- Benesi F.J., Teixeira C.M.C., Leal M.L.R., Lisboa J.A.N., Mirandola R.M.S., Shecaira C.L. & Gomes V. 2012a. Leukograms of healthy Holstein calves within the first month of life. *Pesq. Vet. Bras.* 32:352-356.
- Benesi F.J., Teixeira C.M.C., Lisboa J.A.N., Leal M.L.R., Birgel Júnior E.H., Bohland E. & Mirandola R.M.S. 2012b. Eritrograma de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. *Pesq. Vet. Bras.* 32:357-360.
- Brun-Hansen H.C., Kampen A.H. & Lund A. 2006. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Vet. Clin. Pathol.* 35:182-187.
- Cole D.J., Roussel A.J. & Whitney M.S. 1997a. Interpreting a bovine CBC: Collecting a sample and evaluating the erythron. *Vet. Med.* 92:460-468.
- Cole D.J., Roussel A.J. & Whitney M.S. 1997b. Interpreting a bovine CBC: Evaluating the leukon and acute-phase proteins. *Vet. Med.* 92:470-478.
- Costa M.C., Flaiban K.K.M.C., Coneglian M.M., Feitosa F.L.F., Balarin M.R.S. & Lisboa J.A.N. 2008. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. *Pesq. Vet. Bras.* 28:410-416.
- Ebehart R.J. & Patt J.A. 1971. Plasma cortisol concentrations in newborn calves. *Am. J. Vet. Res.* 32:1921-1927.
- Eckersall P.D. 2008. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias, p.117-155. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. (Eds), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Academic Press, San Diego.
- Fagliari J.J., Santana A.E., Lucas F.A., Campos Filho E. & Curi P.R. 1998. Constituintes sangüíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 50:253-262.
- Fagliari J.J., Rizzolli F.W. & Silva D.G. 2006. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliácridamida. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57:1-4.
- Fagliari J.J., Passipieri M., Okuda H.T., Silva S.L. & Silva P.C. 2007. Serum protein concentrations, including acute phase proteins, in calves with hepatogenous photosensitization. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59:1355-1358.
- Ganheim C., Alenius S. & Waller K.P. 2007. Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *Vet. J.* 173:645-651.
- Gregory K.E., Blunn C.T. & Baker M.L. 1950. Study of some of the factors influencing the birth and weaning weights of beef calves. *J. Anim. Sci.* 9:338-346.
- Harvey J.W. 1990. Normal hematologic values, p.561-570. In: Koterba A.M., Drummond W.H. & Kosch P.C. (Eds), *Equine Clinical Neonatology*. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Higuchi H., Katoh N., Miyamoto T., Uchida E., Yuasa A. & Takahashi A. 1994. Dexamethasone-induced haptoglobin release by calf liver parenchymal cells. *Am. J. Vet. Res.* 55:1080-1085.
- Jain N.C. 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea and Febiger, Philadelphia. 417p.
- Jones M.L. & Allison R.W. 2007. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Vet. Clin. North Am., Food Anim.* 23:377-402.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Academic Press, San Diego. 904p.
- Knowles T.G., Edwards J.E., Bazeley K.J., Brown S.N., Butterworth A. & Warriss P.D. 2000. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Vet. Rec.* 147:593-598.
- Kume S. & Tanabe S. 1993. Effect of parity on colostrum mineral concentrations of Holstein cows and value of colostrums as a mineral source for newborn calves. *J. Dairy Sci.* 76:1654-1660.
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature* 227:680-685.
- Mohri M., Sharif K. & Eidi S. 2007. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: aAge related changes and comparison with blood composition in adults. *Res. Vet. Sci.* 83:30-39.
- Orro T., Jacobsen S., LePage J.P., Niewold T., Alasuutari S. & Soveri T. 2008.

- Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *Vet. Journal* 176:182-187.
- Pauletti P, Machado Neto R, Packer I.U. & Bessi R. 2002. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça Holandesa. *Pesq. Agropec. Bras.* 37:89-94.
- Radostits O.M., Gay G.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. *Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1737p.
- Schalm O.W., Smith R. & Kaneko J.J. 1970. Plasma protein: fibrinogen ratios in dogs, cattle and horses. Part 1. Influence of age on normal values and explanation of use in disease. *Calif. Vet.* 24:9-11.
- Tennant B., Harrold D., Reina-Guerra M., Kendrick J.W. & Laben R.C. 1974. Hematology of the neonatal calf: erythrocyte and leucocyte values of normal calves. *Cornell Vet.* 64:516-532.
- Thrall M.A. 2007. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Roca, São Paulo. 582p.
- Uchida E., Katoh N. & Takahashi K. 1993. Appearance of haptoglobin in serum from cows at parturition. *J. Vet. Med. Sci.* 55:893-894.