



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE COLOSTRO FRESCO OU DE
COLOSTRO DESCONGELADO EM VITELOS

PEDRO TIAGO RIBEIRO GONÇALVES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva
Lima

Doutora Isabel Maria Soares Pereira
da Fonseca de Sampaio

Dr. António Álvaro Dias Lopes

ORIENTADOR

Dr. António Álvaro Dias Lopes

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2016
Lisboa



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE COLOSTRO FRESCO OU DE
COLOSTRO DESCONGELADO EM VITELOS

PEDRO TIAGO RIBEIRO GONÇALVES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva
Lima

Doutora Isabel Maria Soares Pereira
da Fonseca de Sampaio

Dr. António Álvaro Dias Lopes

ORIENTADOR

Dr. António Álvaro Dias Lopes

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2016
Lisboa

Agradecimentos

Quero agradecer ao Professor Doutor George Stilwell, pela dedicação demonstrada durante a realização deste trabalho, contribuindo de forma imprescindível com conhecimentos e orientação em todos os passos tomados.

Ao Doutor Álvaro Lopes, que me acolheu de forma calorosa e que me orientou e ensinou tanto durante todo o meu tempo de estágio, reconhecendo em especial a pessoa e profissional que é.

Ao Professor Doutor Telmo Nunes por me ter dado uma ajuda importante no tratamento estatístico dos dados.

Aos professores da Faculdade, pelos ensinamentos transmitidos, com especial atenção aos professores ligados às espécies pecuárias, por estarem sempre de porta aberta e dispostos a ajudar, contribuindo decisivamente para o meu interesse nesta área.

Ao enfermeiro veterinário Nuno Marques, pela amizade demonstrada e ensinamentos transmitidos durante a minha estadia em Idanha-a-Nova.

Ao senhor Manuel Rito, por me fazer sempre sentir em casa.

Ao Doutor António Coelho e ao Doutor António Morgado, por me receberem e transmitirem os seus conhecimentos em estágios extracurriculares.

Aos meus pais, por me criarem, apoiando e respeitando as minhas opiniões em todos os momentos da minha vida, tornando tudo isto possível, demonstrando sempre um amor incondicional. Sem vocês eu não estaria aqui.

À minha avó Fernandinha, ao meu avô Ribeiro e ao meu tio Miguel, por tudo o que fizeram por mim durante toda a minha vida, em especial durante os seis anos passados em vossa casa. Não podiam fazer mais. Um grande e sentido bem-haja.

À Ana, por todo o apoio e amor demonstrado em todos os momentos dos últimos sete anos, sem nunca desistir de mim.

Aos meus amigos e companheiros de infância, em especial ao Rafael Silva e ao Daniel Palos, obrigado por fazerem parte desta viagem.

Ao Zé, ao Pedro e ao Diogo, pelos momentos de pura amizade e camaradagem que ficarão marcados para sempre, esperando haver muitos outros, tão bons ou melhores do que esses futuramente. Qualquer coisa que se tenha passado: “foi o que se pôde”.

A todos os amigos que foram fazendo parte dos 6 anos de curso, em especial ao Costa, ao Balancho, ao João Almeida, à Vanessa, à Francisca, à Luísa e à Jessica, por me alegrarem sempre o dia.

A todos os trabalhadores da M. Rito Id^a, que fizeram parte, de uma forma ou de outra, do meu estágio.

A todos, um grande

Bem-Haja

Efeito da administração de colostro fresco ou de colostro descongelado em vitelos

Resumo

O bom manejo do colostro é um factor crucial na sanidade dos bovinos recém-nascidos, podendo ter consequências a curto, médio e longo-prazo. Uma das consequências derivadas do mau manejo do colostro é a ocorrência de diarreias neonatais.

Este trabalho teve como objectivo estudar a relação entre a administração de colostro descongelado ou fresco e a prevalência de diarreia neonatal numa exploração leiteira no concelho de Idanha-a-Nova. Este estudo teve em conta a existência de um plano profilático contra a diarreia neonatal, sendo neste caso a vacinação das vacas gestantes com Lactovac C[®], comparando posteriormente a existência de relação entre a prevalência de diarreia neonatal e a administração de colostro imunizado/não imunizado.

Este estudo comportou 49 animais divididos em quatro grupos. Nos dois primeiros grupos foram colocados os animais que receberam colostro não imunizado (Grupo₁ - colostro descongelado; Grupo₂ - colostro fresco) e nos dois últimos foram colocados os animais que receberam colostro imunizado (Grupo₃ - colostro descongelado; Grupo₄ - colostro fresco). Os animais foram admitidos ao estudo apenas quando o colostro administrado obtivesse o estatuto de boa qualidade após avaliação com colostrómetro. Em todos os indivíduos foram medidos os valores de proteína total sérica através de refractómetro óptico, observando-se, para o limite de 5,5g/dL, a passagem bem-sucedida de imunidade em 100% dos animais.

Os resultados obtidos no que diz respeito à eficácia da vacinação, demonstram diferença estatística quanto à ocorrência de diarreia nos grupos em estudo, quer em colostros descongelados (Grupo₁/Grupo₃ - $p=0,046$), quer em colostros frescos (Grupo₂/Grupo₄ - $p=0,002$).

Já no que diz respeito à diferença entre os grupos que receberam colostro descongelado e os que receberam colostro fresco, observa-se a não existência de diferença na prevalência de diarreia quer entre os grupos que receberam colostro imunizado (Grupo₃/Grupo₄ - $p=0,055$), quer entre os grupos que receberam colostro não imunizado (Grupo₁/Grupo₂ - $p=1$), observando-se no entanto uma forte tendência para a diminuição de diarreia em animais administrados com colostro fresco imunizado.

Realizou-se a identificação dos agentes responsáveis das diarreias observadas nos grupos imunizados, chegando-se à conclusão que, dos agentes pesquisados (*Escherichia coli*, *Cryptosporidium parvum*, Rotavirus e Coronavirus), o único presente foi *Cryptosporidium parvum*, sugerindo a efectividade da vacinação.

Palavras-chave: Vitelos, diarreia neonatal, colostro, vacinação, descongelado, fresco.

The effect of fresh or thawed colostrum administration in calves

Abstract

Proper colostrum management is an important feature in newborn health and can have consequences in the short, medium and long-term. Scours in calves is one of the consequences derived from the poor colostrum management.

This work was committed to study the relation between thawed or fresh colostrum and scours prevalence in a dairy farm in the municipality of Idanha-a-Nova. This study took into account the existence, or not, of a prophylactic plan against scours, which in this case was the vaccination of pregnant cows with Lactovac C[®], comparing subsequently the existence of a relation between scours prevalence and immunized/not-immunized colostrum administration.

The study included 49 animals divided by four groups. The animals which received not-immunized colostrum were placed in the first two groups (Group₁ - thawed colostrum; Group₂ - fresh colostrum), and the animals that received immunized colostrum were placed in the last two (Group₃ - thawed colostrum; Group₄ - fresh colostrum). Animals were only admitted to the study if they were fed good quality colostrum, measured by colostrometer. Every animal serum total proteins were measured by refractometer, proving that, for a 5,5g/dL threshold, 100% of the animals had a well-successful passive transfer.

The results obtained as to the vaccine efficacy demonstrated a statistical difference, both in thawed (Group₁/Group₃ – $p=0,046$), and fresh colostrum (Group₂/Group₄ – $p=0,002$).

In what concerns the difference between thawed and fresh colostrum groups, we observed no statistical difference between the immunized colostrum groups (Group₃/Group₄ – $p=0,055$), or in the not immunized colostrum groups (Group₁/Group₂ – $p=1$), noting however a strong downward trend of diarrhea in animals administered with fresh immunized colostrum.

Scour agents (*Escherichia coli*, *Cryptosporidium parvum*, Rotavirus and Coronavirus) were searched in the immunized groups but only *Cryptosporidium parvum* was detected, suggesting vaccination effectiveness.

Key-words: Calves, scours, colostrum, vaccination, thawed, fresh

Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo	iii
Abstract	iv
Lista de figuras	viii
Lista de tabelas.....	viii
Lista de abreviaturas e siglas.....	ix
Lista de símbolos.....	ix
PRIMEIRA PARTE	1
1. Breve descrição de actividades desenvolvidas durante o estágio	1
Revisão Bibliográfica	2
2. Introdução.....	2
3. Transferência de Imunidade Passiva	2
4. Colostro e constituintes.....	3
4.1. Imunoglobulinas.....	3
4.2. Leucócitos	4
4.3. Factores de crescimento e citocinas.....	4
4.4. Nutrientes	4
5. Qualidade do colostro	4
5.1. Avaliação da qualidade do colostro.....	5
5.1.1. Colostrómetro.....	5
5.1.2. Refractómetro Brix	6
5.1.3. Colostrum Bovine IgG Quick Test Kit	6
5.1.4. Imunodifusão radial	6
5.2. Variação na qualidade do colostro.....	7
5.2.1. Raça.....	7
5.2.2. Número de lactações.....	7
5.2.3. Nutrição pré-parto	7
5.2.4. Mastites.....	8
5.2.5. Stress térmico	8
5.2.6. Duração do período seco	8
5.2.7. Tanque de colostros.....	8
5.2.8. Primeira ordenha.....	8
6. Administração do colostro	9
6.1. Método natural.....	9
6.2. Método artificial.....	10
6.2.1. Biberão.....	10

6.2.2. Sonda esofágica.....	11
6.3. Volume a administrar	11
7. Maneio do colostro.....	12
8. Fórmulas de substituição e suplementos ao colostro	13
9. Falha na transferência de imunidade passiva	15
10. Métodos de aferir a transferência de imunidade passiva / monitorização.....	15
10.1. Medição de Proteína Total por refractómetro.....	16
10.2. Teste de precipitação por sulfito de sódio.....	16
10.3. Teste de precipitação por sulfato de zinco.....	17
10.4. Actividade da gama glutamiltransferase (GGT).....	17
10.5. Teste de coagulação do glutaraldeído no sangue total.....	18
10.6. Outros Testes	18
11. Diarreia neonatal.....	18
11.1. Etiologia.....	19
11.1.1. <i>Cryptosporidium parvum</i>	19
11.1.2. <i>Escherichia coli</i> enterotoxinogenica.....	20
11.1.3. Rotavirus	21
11.1.4. Coronavirus.....	22
11.2. Outras etiologias.....	22
11.2.1. <i>Salmonella</i> :	22
11.2.2. Torovirus:	23
11.2.3. Norovirus bovino:	23
11.2.4. Nebovirus:.....	23
11.2.5. Clostridium spp:.....	24
11.3. Quadro Clínico.....	24
11.4. Vacinação.....	25
SEGUNDA PARTE	26
Trabalho prático.....	26
12. Objectivos	26
13. Materiais e métodos.....	26
13.1. Descrição da exploração	26
13.2. Amostra	27
13.3. Desenho experimental.....	27
13.3.1. Metodologia de colheita de elementos por Grupo:.....	28
13.4. Análise de amostras	29
13.5. Análise estatística	30
14. Resultados.....	30

14.1. Análise da população em estudo	30
14.2. Caracterização do Grupo ₁ em estudo.....	31
14.3. Caracterização do Grupo ₂ em estudo.....	32
14.4. Caracterização do Grupo ₃ em estudo.....	33
14.5. Caracterização do Grupo ₄ em estudo.....	34
15. Prevalência de diarreia neonatal	35
15.1. Relação entre a prevalência de diarreia e a qualidade do colostro	35
15.2. Relação entre a prevalência de diarreia e os valores da proteína total sérica	38
15.3. Relação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado <i>versus</i> fresco proveniente de mães não vacinadas.....	41
15.5. Relação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado proveniente de mães vacinadas <i>versus</i> não vacinadas	42
15.6. Relação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro fresco proveniente de mães vacinadas <i>versus</i> não vacinadas	43
15.7. Prevalência de <i>Cryptosporidium parvum</i> em diarreias de vitelos imunizados	44
16. Discussão	44
16.1. Relação entre os valores de gravidade específica e a prevalência de diarreia	44
16.2. Relação entre proteína total sérica e a prevalência de diarreia.....	45
16.3. Prevalência de diarreia e a administração de colostro de vacas vacinadas <i>versus</i> não vacinadas	45
16.4. <i>Cryptosporidium parvum</i>	46
16.5. Prevalência de diarreia e a administração de colostro fresco ou descongelado...	47
17. Considerações finais	48
18. Conclusão.....	49
19. Bibliografia	50
20. Anexos.....	59
Anexo A: RCM Lactovac C [®]	59
Anexo B: Protocolo Rainbow Calf Scour 4	63
Anexo C: Tabelas de dados	65

Lista de figuras

Figura 1: Colostrómetro	5
Figura 2: Refractómetro	16

Lista de tabelas

Tabela 1: Distribuição dos vitelos pelos grupos	30
Tabela 2: Incidência de diarreia no estudo.....	30
Tabela 3: Distribuição dos animais pelos valores de Proteína Total Sérica.....	31
Tabela 4: Distribuição dos animais pelos valores de gravidade específica do colostro	31
Tabela 5: Distribuição dos animais do Grupo ₁ pelos valores de gravidade específica do colostro	31
Tabela 6: Distribuição dos animais do Grupo ₁ pelos valores de proteína total sérica.....	32
Tabela 7: Prevalência de diarreia no Grupo ₁	32
Tabela 8: Distribuição dos animais do Grupo ₂ pelos valores de gravidade específica do colostro	32
Tabela 9: Distribuição dos animais do Grupo ₂ pelos valores de proteína total sérica.....	33
Tabela 10: Prevalência de diarreia no Grupo ₂	33
Tabela 11: Distribuição dos animais do Grupo ₂ pelos valores de gravidade específica do colostro	33
Tabela 12: Distribuição dos animais do Grupo ₃ pelos valores de proteína total sérica.....	33
Tabela 13: Prevalência de diarreia no Grupo ₃	34
Tabela 14: Distribuição dos animais do Grupo ₄ pelos valores de gravidade específica do colostro	34
Tabela 15: Distribuição dos animais do Grupo ₄ pelos valores de proteína total sérica.....	34
Tabela 16: Prevalência de diarreia no Grupo ₄	34
Tabela 17: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo ₁	35
Tabela 18: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo ₂	36
Tabela 19: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo ₃	37
Tabela 20: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo ₄	37
Tabela 21: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo ₁	38
Tabela 22: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo ₂	39
Tabela 23: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo ₃	40
Tabela 24: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo ₄	41
Tabela 25: Grupo ₁ e Grupo ₂ , prevalência de diarreia	41
Tabela 26: Grupo ₃ e Grupo ₄ , prevalência de diarreia	42
Tabela 27: Grupo ₁ e Grupo ₃ , prevalência de diarreia	43
Tabela 28: Grupo ₂ e Grupo ₄ , prevalência de diarreia	43

Lista de abreviaturas e siglas

BCoV: Coronavírus bovino
BNoV: Norovírus bovino
BoTV: Torovírus bovino
BVD: Diarreia Viral Bovina
ELISA: *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*
EUA: Estados Unidos da América
ETEC: *E. coli* enterotoxigénica
FTP: Falha de Transferência Passiva
g/L: Grama por litro
g/dL: Grama por decilitro
GGT: Gama glutamiltransferase
GMD: Ganho Médio Diário
IBR: Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
IgA: Imunoglobulina A
IgE: Imunoglobulina E
IGF1: Insulin-like growth factor 1
IgG: Imunoglobulina G
IgG₁: Imunoglobulinas G₁
IgE: Imunoglobulina E
IL-1 β : Interleucina 1 β
IL-6: Interleucina 6
IU/L: Unidade Internacional por litro
L: Litro
Lda.: Limitada
mg/mL: Miligrama por mililitro
mg/dL: Miligrama por decilitro
NAHMS: National Animal Health Monitoring System
PT: Proteína Total
RCM: Resumo das Características do Medicamento
RID: Imunodifusão radial
RNA: Ácido ribonucleico
TIA: Imunoensaio turbidimétrico
TNF: Tumor necrosis factor
ufc/mL: Unidades formadoras de colónia por mililitro

Lista de símbolos

€: Euro, moeda oficial de Portugal

‰: Percentagem

<: Menor que

>: Maior que

°C: Grau Celsius

®: Marca registada

PRIMEIRA PARTE

1. Breve descrição de actividades desenvolvidas durante o estágio

O estágio curricular desenvolveu-se durante o período compreendido de 1 de Outubro de 2015 a 29 de Fevereiro de 2016, durante o qual o autor acompanhou o médico veterinário Dr. Álvaro Lopes na sua actividade diária nos concelhos de Idanha-a-Nova, Castelo Branco e Fundão, tal como o acompanhamento do maneio e gestão de uma exploração de leite (M. Rito Lda.) no Ladoeiro (Idanha-a-Nova).

As actividades realizaram-se em explorações de bovinos de leite e de carne, de caprinos, de ovinos e coudelarias.

Nas explorações de bovinos o autor teve oportunidade de realizar diversas actividades nas mais diferenciadas áreas:

- Descorna e vacinação de vitelos;
- Descorna de bovinos adultos;
- Protocolos de vacinação, tuberculinização e recolha de sangue;
- Testes de pré-movimentação de bovinos;
- Detecção de cios;
- Exames andrológicos;
- Protocolos de sincronização de cios;
- Inseminação artificial;
- Palpação rectal para diagnóstico de gestação e eventuais problemas reprodutivos com e sem auxílio à ecografia;
- Partos distócicos e fetotomia;
- Tratamento de casos de claudicação;
- Tratamento e prevenção de cetoses;
- Cirurgias para correcção de deslocamentos do abomaso à direita.
- Resolução de diversos casos clínicos de natureza infecciosa.

Em explorações de caprinos e ovinos desenvolveu-se actividades, tais como:

- Vacinação, recolha de sangue e identificação electrónica;
- Diagnóstico de gestação por meio de ecografia.

No que diz respeito às actividades exercidas em coudelarias o autor auxiliou a castração de um cavalo e realizou resenhos.

Para além do que já foi referido anteriormente o autor realizou acções de controlo de tuberculose bovina em animais de caça maior, e também a realização de vacinação de coelhos bravos contra a mixomatose e doença hemorrágica num parque de caça privado.

Revisão Bibliográfica

2. Introdução

A pro-actividade na prevenção de doenças assim como na melhoria do maneio das explorações, quer do colostro, quer dos vitelos, quer das condições de higiene, são pontos de grande importância na sanidade dos vitelos, diminuindo a mortalidade nos meses a seguir ao parto. Em Portugal, relatou-se que a mortalidade peri-natal e a mortalidade juvenil apresentavam valores de 20% e 9,9%, respectivamente (Rodrigues, Braz, Carolino, Carreira, & Stilwell, 2014). Quanto ao impacto económico por diarreias neonatais registam-se perdas de 2% a 8% na economia da exploração (Lacerda, 2014).

Este estudo pretende avaliar a relação entre a administração de colostro, quer descongelado quer fresco, e a ocorrência de diarreia neonatal em vitelos de uma exploração leiteira. Levando posteriormente à discussão os factores que podem ter levado aos resultados obtidos.

3. Transferência de Imunidade Passiva

A imunidade resultante da transferência de anticorpos e outros elementos protectores com origem materna, tanto através da placenta durante a gestação como pela ingestão de colostro, denomina-se imunidade passiva (Ussman, 2011). Nos vitelos a transferência de imunidade obtém-se apenas através da ingestão do colostro materno, tendo em conta que a estrutura placentária bovina, do tipo sindesmocorial, formando um sincício entre o endométrio e a trofoectoderme fetal, não permite a transferência de imunoglobulinas para o feto durante a gestação. Esta transferência de imunidade é essencial para os vitelos durante os primeiros meses de vida, pois, apesar de produzirem anticorpos endógenos já desde o período fetal, continuam a estar susceptíveis a infecções durante as primeiras semanas de idade (Godden, 2008; Weaver, Tyler, Vanmetre, Hostetler, & Barrington, 2000).

No caso de uma falha de transferência de imunidade passiva, está reconhecida a correlação entre esta e o aumento de morbilidade e mortalidade no período neo-natal, podendo ser identificadas, ainda, outras consequências, como a diminuição no ganho do peso médio diário (GMD) (Leslie & Peregrine, 2008). A ineficácia de transferência imunológica pode traduzir-se a médio-longo prazo em diminuição das performances produtivas nas primeiras lactações, aumentando ainda as taxas de refugo à primeira lactação (Godden, 2008; Weaver, Tyler, Vanmetre, Hostetler & Barrington, 2000).

A absorção das imunoglobulinas colostrais, por parte do vitelo, ocorre durante as primeiras 24h de vida no intestino delgado, passando do lúmen intestinal para o enterócito por pinocitose, e posteriormente, por exocitose, para os vasos linfático que as transportam até à corrente sanguínea por meio do ducto torácico (Godden, 2008; Hogan et al., 2015). De referir que parte das imunoglobulinas não serão absorvidas sendo importantes para a

defesa local do intestino, mesmo várias semanas após o nascimento (Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2006). Após seis horas de vida está descrita uma diminuição no poder de absorção em valores que rondam os 50%, até à sua cessão por volta das 24h pós-parto. Este processo de absorção não selectivo apoia-se na evidência de um aumento da concentração de proteínas no soro do vitelo e da actividade enzimática, após a ingestão de colostro (Cortese, 2009; Mcguirk & Collins, 2004; Weaver et al., 2000).

4. Colostro e constituintes

Faz parte da constituição do colostro uma grande variedade de elementos como imunoglobulinas, leucócitos maternos, factores de crescimento, hormonas, citoquinas e nutrientes (Godden, 2008).

4.1. Imunoglobulinas: O colostro começa a ser formado várias semanas antes do parto com o transporte de imunoglobulinas do plasma materno para a glândula mamária, sendo este processo desencadeado por hormonas lactogénicas, como a prolactina, que vão permitir que os receptores das células do epitélio secretor da glândula mamária facilitem a transferência de imunoglobulinas G (IgG), em especial de IgG1. Quanto às menos abundantes IgA e IgM, estas são produzidas, de forma maioritária, *in loco* por plasmócitos que se encontram na glândula mamária (Godden, 2008). A transferência de IgG durante a produção de colostro, pode chegar a ser na ordem de 500g/semana chegando ao seu pico de transferência pouco antes do parto (Mcguirk & Collins, 2004). A concentração na primeira ordenha pós-parto é bastante elevada, começando a decair progressivamente durante as seis ordenhas seguintes, sendo este denominado leite de transição, atingindo então os valores mínimos correspondente ao leite cru (Godden, 2008; Mcguirk & Collins, 2004).

No colostro podemos observar, normalmente, uma concentração de 50 a 150mg/ml de imunoglobulinas, sobressaindo a IgG que se encontra numa percentagem aproximadamente de 85% a 90% do total de imunoglobulinas, seguindo-se de IgM com 7% e depois IgA com 5%. Ainda dentro das IgG podemos destacar a presença de IgG₁ que forma 80% a 90% do total de IgG no colostro (Larson, Jr, & Devery, 1980). Embora as concentrações possam variar bastante de animal para animal e de lactação para lactação, podemos verificar que em média as concentrações de IgG, IgM e IgA no colostro ronda os 75mg/mL, 4,9mg/mL e 4,4mg/mL, respectivamente. Porém, num trabalho realizado na Pensilvânia (Kehoe, Jayarao, & Heinrichs, 2007) os valores de IgG, IgM e IgA eram de a 41mg/mL, 4,3mg/mL e 1,7mg/mL, respectivamente. Já noutro trabalho (El-Zahar, El-Loly, & Abdel-ghany, 2015) a concentração de IgG no colostro atingiam valores de 122,60 ± 5,24 mg/mL. Embora não se conheça bem o seu processo de transferência, podemos observar ainda a existência de IgE, pensando-se que estas possam ter um papel importante na prevenção de parasitoses intestinais neonatais (Godden, 2008; Larson et al., 1980).

4.2. Leucócitos: Em relação aos leucócitos maternos, podemos quantificar em 10^6 leucócitos/ml dos quais 20% a 30% irão ser absorvidos para a circulação sanguínea do vitelo (Radostits et al., 2006). Dentro desta categoria incluem-se células como os macrófagos, linfócitos T e B, e neutrófilos. Estas células serão, após ingestão do colostro, absorvidas preferencialmente nas secções do intestino delgado que apresentam placas de Peyer, sendo estas correspondentes ao ílio (Godden, 2008; Larson et al., 1980). Meganck *et al* (2014) concluíram que das células mononucleadas isoladas dos colostros $32,7 \pm 13,7\%$ correspondiam a macrófagos, $25,4 \pm 17,1\%$ a linfócitos T e $2,9 \pm 3,0\%$ a linfócitos B.

4.3. Factores de crescimento e citocinas: Pode-se encontrar no colostro vários tipos de componentes com actividade antimicrobiana como o caso da lactoferrina, lisozima, e lactoperoxidase. Pode-se ainda encontrar factores de crescimento como factor transformador de crescimento beta-2 (TGF- β 2), hormona de crescimento (GH) e insulina. Existe ainda o factor de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) que promove o desenvolvimento gastrointestinal nos vitelos. Observa-se também a existência de inibidores de tripsina que servem de protectores para as proteínas colostrais no intestino do vitelo (Godden, 2008). Existem ainda citocinas em elevada concentração, como é o caso de IL- 1β , IL-6, TNF- α e o IFN- γ , que promovem o desenvolvimento do sistema imunitário do vitelo (Tizard, 2012).

4.4. Nutrientes: Em comparação com o leite, o colostro apresenta uma concentração de sólidos totais muito mais elevado, devido principalmente, ao aumento da concentração de proteínas como as imunoglobulinas e caseína. Também se pode observar um aumento do teor de gordura visto a elevada necessidade dos neonatos em energia para manutenção e regulação da temperatura corporal nos primeiros dias após nascimento. Observa-se ainda o aumento, em relação ao leite, em vitaminas e minerais, como o cálcio, magnésio, zinco, manganês, ferro, cobalto, vitamina A, vitamina E, caroteno, riboflavina, vitamina B12, ácido fólico, colina e selénio (Godden, 2008)

5. Qualidade do colostro

Como já referido anteriormente, a ingestão do colostro é essencial para a sobrevivência do vitelo nos primeiros meses de vida, sendo importante aferir a sua qualidade. Para que esta transferência de imunidade seja bem-sucedida é preciso que o vitelo absorva entre 100 a 200g de imunoglobulinas (Mcguirk & Collins, 2004). Apesar de o colostro conter vários outros elementos importantes para a imunidade do recém-nascido, está padronizada a medição da concentração de IgG para avaliar a qualidade do colostro e do seu maneio, visto que a relação entre a saúde do recém-nascido e a quantidade de imunoglobulinas é a

melhor estudada e compreendida, e as IgG compõem cerca de 85% do total de imunoglobulinas encontradas no colostro (Godden, 2008). Podemos dizer que um colostro é de boa qualidade quando contém concentrações de IgG superiores a 50 g/L (Mcguirk & Collins, 2004)

5.1. Avaliação da qualidade do colostro

Avaliar os colostros permite dividi-los em alta e baixa qualidade, reflectindo a concentração de imunoglobulinas (Radostits et al., 2006). Pode-se começar a ter uma ideia da qualidade do colostro visualmente, através da sua cor e espessura, não sendo esta uma avaliação objectiva e confiável, recorrendo-se por isso a outras formas de aferir a sua qualidade (Quigley, Lago, Chapman, Erickson, & Polo, 2013). Empiricamente recomenda-se a exclusão imediata de colostros com aspecto aquoso, com sangue e de vacas que começaram a expelir leite antes do parto (Godden, 2008). Vistas as vastas variáveis que afectam a concentração de imunoglobulinas no colostro, torna-se muito difícil, na exploração, determinar com precisão a quantidade exacta das mesmas (Quigley, Lago, Chapman, Erickson, & Polo, 2013).

5.1.1. Colostrómetro

O colostrómetro é um aparelho que permite avaliar, de forma rápida e barata, a qualidade de colostro. A concentração de imunoglobulinas é deduzida a partir da gravidade específica do colostro, mas está dependente de vários factores como da temperatura do colostro, da raça da vaca, da altura do ano, e da concentração dos outros elementos. É, portanto, um método algo falível e imprevisível para traduzir a qualidade do colostro (Godden, 2008; Quigley et al., 2013). O aparelho utilizado neste método é um densímetro que contem uma escala por cores para ajudar a identificar o valor correspondente a cada colostro (Heinrichs et al., 2011). Está descrito como valor limite, entre colostro de boa qualidade e média qualidade, o valor de 1,048 de gravidade específica, sendo este considerado o correspondente à concentração de 50g/L de IgG no colostro, este valor está padronizado para fornecer boa protecção para um animal que ingira 2.84L de colostro (Bielmann et al., 2010; Godden, 2008; Quigley et al., 2013; Radostits et al., 2006). Segundo Princhett *et al* (1994) a sensibilidade e a especificidade do colostrómetro correspondem a valores de 32% e 97%, respectivamente, sendo sugerindo adequar o limite de concentração mínimo de IgG no colostro ao volume de colostro a administrar (45g/L, 60g/L e 110g/L para 4L, 3L, 2L, respectivamente). Colostros que mostram “verde” no colostrómetro contêm concentrações de IgG >50g/L; aqueles que mostram “amarelo” contêm entre 20 a 50g/L; e aqueles que mostram

Figura 1: Colostrómetro



“vermelho” contêm <20g /L (Heinrichs et al., 2011). As medições devem ser realizadas à temperatura de 20-22°C para que a leitura seja a mais correcta possível, visto que a variação da mesma leva a que haja sobrestimação ou subestimação do valor obtido, caso a temperatura seja mais baixa, ou mais elevada, respectivamente (Bartier, Windeyer, & Doepel, 2015; Heinrichs et al., 2011; Radostits et al., 2006).

5.1.2. Refractómetro Brix

O refractómetro baseia-se na medição do índice de refração de um líquido, neste caso na escala de Brix. Este refractómetro foi originalmente fabricado para medir o nível de sacarose numa solução, sendo possível no entanto determinar também a concentração de IgG no colostro (Quigley et al., 2013). Para sua utilização coloca-se algumas gotas de colostro no prisma baixando posteriormente a tampa, de seguida coloca-se o refractómetro virado para a luz, ficando o instrumento em perpendicular em relação à fonte luminosa. Para medir a concentração de IgG observa-se o valor que corresponde à linha fronteira que se encontra entre a área clara e a área escura (Heinrichs et al., 2011). Existem, quer aparelhos analógicos, quer aparelhos digitais, sendo estes últimos mais fiáveis, visto a não existência da subjetividade humana ao avaliar os valores, sendo ambos bastante úteis para cálculo da concentração de IgG (Bielmann et al., 2010; Heinrichs et al., 2011; Quigley et al., 2013). Segundo Bielmann *et al* (2010) o valor correspondente a 50g de IgG/L é de 22% na escala de Brix, ou seja, percentagens acima de 22% considera-se o colostro de boa qualidade. Segundo Quigley *et al* (2013) para o valor de 22% a sensibilidade e especificidade do refractómetro correspondem, respectivamente, a 85.7% e 79.3%. Para além de ser mais sensível que o colostrómetro, este método não está dependente da temperatura, como aponta Bielmann *et al* (2008) citado por Bielmann *et al* (2010), em que refere que para temperaturas de 3, 20 e 38°C não foram observadas diferenças significativas.

5.1.3. Colostrum Bovine IgG Quick Test Kit

Este teste rápido tem como objectivo averiguar, na exploração, se o colostro analisado corresponde, ou não, a um colostro com concentração superior a 50g de IgG/L. Sendo baseado na técnica de ELISA, demorando cerca de 20 minutos para se saber o resultado (Godden, 2008; Radostits et al., 2006). Segundo Chigerwe *et al* (2005) citado por Godden (2008), a sensibilidade e especificidade para este teste corresponde a 0,93 e 0,76, respectivamente.

5.1.4. Imunodifusão radial

Para determinar a concentração de IgG no colostro ainda podemos utilizar técnicas laboratoriais que têm por princípio a interação entre IgG bovinas e IgG anti-bovinas. A

Imunodifusão Radial RID é o teste *standard* para avaliar a concentração de IgG no colostro e no soro sanguíneo (Bielmann et al., 2010; Quigley et al., 2013).

5.2. Variação na qualidade do colostro

A qualidade do colostro pode ser afectada por diversos factores, que podem ser ou não controladas pelo produtor, com vista a melhorar a transferência de imunidade passiva dos recém-nascidos (Godden, 2008; Radostits et al., 2006).

5.2.1. Raça: Há evidências que existem diferenças entre raças em relação à concentração de imunoglobulinas no colostro. É o caso da diferença entre raças leiteira/raças de carne, tendo as últimas uma concentração mais elevada em comparação com as primeiras (Radostits et al., 2006), como corroboram Guy *et al* (1994) que demonstraram que raças de carne (113,4mg/mL) têm uma maior concentração de IgG₁ no colostro do que raças de leite (42,7mg/mL). Num estudo (Muller & Ellinger, 1981) que comparou diferentes raças de vacas leiteiras relatam que vacas Holstein produzem colostros com menor quantidade de imunoglobulinas (5,6%), comparativamente com outras raças, como as Guernsey (6,3%), Pardas Suíças (6,6%), Ayshire (8,1%) e Jersey (9,0%).

5.2.2. Número de lactações: Está descrita a melhor qualidade de colostro em vacas multíparas com três ou mais lactações em comparação com animais mais novos. Esta constatação apoia-se na maior exposição a antigénios por parte de animais mais velhos, comparativamente a animais mais novos levando ao aumento da quantidade de imunoglobulinas no colostro e concomitantemente ao aumento da qualidade colostril (Conneely et al., 2013). Esta tendência está descrita num estudo realizado por Tyler et al. (1999), citado por Godden (2008), em que se relatou que a média de concentração de IgG no colostro em vacas Holstein em 1^a (66g/L), 2^a (75g/L), e 3^a ou mais lactações (97g/L). Embora exista esta tendência não se pode supor que todos os colostros de animais de primeira lactação sejam maus, havendo mesmo colostros de alta qualidade (Radostits et al., 2006).

5.2.3. Nutrição pré-parto: Este assunto é controverso, visto não existir provas em concreto que apontem para que a nutrição da vaca no pré-parto possa alterar a concentração de IgG no colostro. Antes pelo contrário, existem estudos realizados em vacas de carne, em que se observou que uma dieta pobre em proteína e pouco energética não provocou alterações na concentração de IgG no colostro (Maunsell, 2014). Embora não haja provas que a qualidade do colostro diminua, Lacetera et al (1996), citado por Maunsell (2014), realizou um estudo no qual tratou vacas no pré-parto com injeção de selénio e vitamina E, e observou um aumento no volume de colostro comparativamente às vacas que não foram tratadas. No

entanto, embora tenha havido aumento no volume não se registou qualquer modificação nas concentrações de IgG. É de realçar que todas as vacas estavam sujeitas a uma dieta pobre em selénio e vitamina E.

5.2.4. Mastites: Existem estudos que referem que vitelos provenientes de mães com mastite têm menores concentrações de IgG no soro (Radostits et al., 2006). Está comprovado a diminuição de volume de colostro em vacas com mastites subclínicas durante o período seco, mas sem afectar a concentração de IgG (Godden, 2008; Maunsell, 2014). Contudo a existência de mastite clinica pode implicar numa diminuição da qualidade do colostro combinada com uma possível transmissão de bactérias patogénicas para o vitelo (Maunsell, 2014).

5.2.5. Stress térmico: Quanto à diminuição da qualidade do colostro devido a stress térmico há estudos, não todos, que apontam para uma diminuição da concentração de IgG e IgA e de outros componentes no colostro, quando ocorrem altas temperaturas ambientais durante a fase mais avançada de gravidez, observando-se piores colostros durante o verão (Godden, 2008; Maunsell, 2014; Radostits et al., 2006).

5.2.6. Duração do período seco: Está descrita uma diminuição da concentração de colostro em vacas que façam um período seco inferior a 30 dias (Radostits et al., 2006). Segundo um estudo de Rastani *et al* (2005) vacas com um período seco de 30 ± 5 dias não apresentavam diferenças na concentração de imunoglobulinas, em comparação com vacas que apresentavam um período seco de 57 ± 7 dias; já em relação a vacas em que não se realizou um plano de secagem adequado, tendo um período seco de 5 ± 6 dias, observou-se uma diminuição de concentração de imunoglobulinas tendo em conta o primeiro grupo (49,8 vs 77,9g/L de Ig). O encurtamento do período seco (<40 dias) leva também à diminuição do volume de colostro (Godden, 2008; Mcguirk & Collins, 2004; Rastani et al., 2005).

5.2.7. Tanque de colostros: A mistura de colostros provenientes de diferentes vacas pode levar à diluição de colostros com boa concentração de imunoglobulinas devido à presença de outros colostros com pobre concentração (Mcguirk & Collins, 2004; Radostits et al., 2006). A mistura pode também ser uma importante fonte transmissora de doenças já que basta a presença do colostro de uma vaca portadora de um agente infeccioso, para que muitos vitelos possam ser afectados (Godden, 2008; Radostits et al., 2006).

5.2.8. Primeira ordenha: Há evidências de que atrasar a primeira ordenha (>6h pós-parto) pode provocar a diminuição da concentração de imunoglobulinas (Radostits et al., 2006). Segundo um estudo de Moore *et al* (2005), citado por Godden (2008), após realizar a

primeira ordenha a diferentes horas (6, 10, 14h pós-parto) podemos observar uma diminuição de concentração de imunoglobulinas em 17%, 27% e 33%, respectivamente. Noutro estudo (Conneely et al., 2013) observou-se que vacas ordenhadas entre 9 e 12h pós-parto apresentavam diminuição da concentração de IgG, no colostro, de 86% comparativamente ao colostro ordenhado às 3h pós-parto, diminuindo a sua concentração a um ritmo de 1,1% por cada hora pós-parto. Já no estudo de Morin *et al.* (2010) observou-se a diminuição de 3,7% da concentração de colostro a cada hora pós-parto.

6. Administração do colostro

A ingestão de colostro em quantidade e qualidade suficientes por parte do recém-nascido, é extremamente importante para se obter uma boa transferência de imunidade, sendo importante também o método utilizado na administração. O modo de administração pode ser de dois tipos: método natural, que corresponde ao mamar natural do vitelo na mãe; e método artificial, correspondendo à administração humana de colostro. É importante reconhecer este passo como sendo fulcral para a boa saúde do vitelo e para o seu bom desenvolvimento, visto que vai influenciar a hora de obtenção do colostro por parte do vitelo, o volume consumido e ainda a eficiência na absorção de IgG (Godden, 2008).

6.1. Método natural

Podíamos pensar que deixar o vitelo recém-nascido mamar na mãe seria o mais aconselhado, mas a verdade é que, pelo menos em vacas de leite, isto pode não ser verdade. Existem estudos que indicam que embora o contacto com a mãe aumente a absorção de imunoglobulinas, devido ao fecho adequado da goteira esofágica, vitelos deixados com a vaca podem não obter o volume colostrado necessário para uma boa transferência de imunidade. Este facto pode dever-se a inúmeros factores como, por exemplo, a falta de vontade de mamar do recém-nascido durante as primeiras horas de vida (Godden, 2008; Hansen, 2007; Mcguirk & Collins, 2004; Radostits et al., 2006). Assim, é aconselhável retirar o vitelo de ao pé da mãe até duas horas após parto, visto que durante esse período ainda o vitelo não tentou mamar, e é durante esse intervalo de tempo que ocorre a maior taxa de absorção de imunoglobulinas no intestino do recém-nascido, sendo administrado imediatamente o colostro pelos tratadores (Hansen, 2007).

Segundo Edwards & Broom (1979) citado por Golden (2008) 46% dos vitelos nascidos de vacas com dois ou mais partos não mamaram dentro das primeiras 6 horas de vida, enquanto os vitelos de vacas primíparas apenas 11% dos vitelos falharam a mamar no mesmo período. Estes atrasos podem ter diversas causas, como a debilidade ou alguma lesão do vitelo e/ou da mãe, por mastite ou outra doença da mãe, úberes pendulares, ou tetos muito grandes, podendo ser também por uma deficiência nos instintos maternos.

Outro motivo para se retirar o vitelo de ao pé da mãe é a prevenção de transmissão fecal-oral de microorganismos, quer na altura de se tentar levantar, quer durante o acto de procurar os tetos, quer durante o processo de mamar. Em todas estas situações pode ocorrer contacto do recém-nascido com fezes, podendo posteriormente levar a doenças neonatais, podendo tornar-se também portadores de outras doenças (Mcguirk & Collins, 2004).

Uma forma para contornar alguns dos problemas anteriormente referidos é ajudar o vitelo a mamar na vaca, não sendo um método infalível devido ao facto de haver sempre animais que não são detectados a tempo por parte dos tratadores (Radostits et al., 2006).

6.2. Método artificial

Visto os problemas retratados anteriormente com o método natural, muitos produtores passaram a utilizar outros métodos de administração de colostro em que não envolvam a imprevisibilidade inculcida a todo o processo de mamar natural por parte do vitelo. Os métodos mais utilizados são o biberão, o balde e a sonda esofágica.

Segundo inquéritos realizados nos Estados Unidos, 68,1%, 70,5%, 76,2% e 64,4% dos vitelos são encolostrados através de biberão ou sonda esofágica, nos anos de 1992, 1996, 2002 e 2007 respectivamente (Godden, Haines, Konkol, & Peterson, 2009; Godden, 2008). Já num inquérito em 2014 nos Estados Unidos 87,4% das explorações utilizam o biberão, 8,1% a sonda esofágica e 4,5% o balde, referindo também que 97,3% das explorações optam por alimentar artificialmente os vitelos (NAHMS, 2016). Estes valores comprovam a falta de confiança que os produtores demonstram quanto à capacidade do vitelo, por si só, em obter uma transferência de imunidade passiva satisfatória.

6.2.1. Biberão

O biberão é um método eficiente para administrar colostro ao recém-nascido, embora seja falível, principalmente se o tratador responsável não for paciente e não tiver prática. No estudo por Urday *et al* (2008) citado por Godden *et al* (2009), constatou-se que a ingestão voluntária de colostro, numa só toma, por parte vitelo, aquando a utilização de biberão, tinha valores médios de 2,34L, havendo uma distribuição dos indivíduos que consumia desde os 0L até aos 3L de colostro. No mesmo estudo observou-se ainda que 31% dos vitelos consumiram 2L ou menos, e que 44% consumiram 3L de colostro. Visto que grande parte dos colostros não contém em 2L a massa de imunoglobulinas necessária para uma boa transferência de imunidade (Quigley & Drewry, 1998), este método de alimentação fica refém do uso de pelo menos duas administrações., Está convencionado que com a administração através de biberão se deve procurar obter, no total, 4L de colostro consumidos até às 12h pós-parto (Lorenz, Mee, Earley, & More, 2011).

6.2.2. Sonda esofágica

Ao contrário do que acontece com o biberão, em que se observa que a quantidade de colostro consumida por parte do vitelo está dependente da vontade do próprio, a sonda esofágica é uma forma de administração de colostro em que se força o seu consumo, podendo-se alimentar o recém-nascido com um volume maior (Radostits et al., 2006).

Está estudado que a administração por entubação de um volume reduzido (2L) de colostro não promove uma boa transferência de imunidade passiva, visto que, por não haver o fechamento da goteira esofágica, maior parte do colostro fica retido no retículo e rúmen, levando a um atraso de cerca de 3h para o colostro chegar ao abomaso. Para contornar este problema deve-se administrar no mínimo 3L de colostro por este método (Godden et al., 2009; Lorenz et al., 2011). Um ponto importante são os traumatismos causados pela utilização indevida da sonda esofágica, nomeadamente laringites e esofagites, podendo também originar falsos trajectos caso seja utilizado por pessoal pouco treinado.

6.3. Volume a administrar

A quantidade ingerida de IgG para se obter uma boa transferência de imunidade passiva ($\geq 10\text{mg IgG/mL}$ no soro sanguíneo), para a maioria dos autores, é de no mínimo 100g de IgG durante as primeiras 12h de vida (Morin, McCoy, & Hurley, 1997), sendo que o volume de colostro necessário para se obter essa quantidade de imunoglobulinas está dependente da concentração das mesmas no colostro. Por exemplo, se tivermos um colostro com uma concentração de 50g de IgG/L, isto vai traduzir-se num volume necessário de apenas 2L para colmatar 100g de IgG; já numa concentração de 25g/L seria necessário 4L de colostro para obter essa quantidade (Godden, 2008). Um estudo realizado por Besse *et al* (1991) citado por Godden (2008), relata que apenas 36% dos colostros analisados provaram ter concentração suficiente de imunoglobulinas para que se possa, com apenas 2L de colostro, almejar uma quantidade de 100g de IgG ingeridas, este resultado prova que a maioria dos colostros não são confiáveis para se administrar apenas num volume de 2L.

Visto a grande variação da concentração de imunoglobulinas entre colostros, e a ausência de métodos para aferir a qualidade dos mesmos, recomenda-se a administração de cerca de 10 a 12% do peso corporal do recém-nascido (Godden, 2008). Segundo Besser *et al* (1991) citado por Hopkins & Quigley (1997) admite-se que para minimizar a falha na transferência de imunidade passiva em vitelos de leite se deve administrar artificialmente entre 3 a 4L de colostro ao recém-nascido, durante as primeiras 24h de vida. Ainda noutro trabalho realizado por Morin *et al* (1997), ao comparar a administração de um volume baixo de colostro (2L) com a administração de um grande volume de colostro (4L), ambos com alta concentração de Ig, nas três primeiras horas de vida, observou que neste último houve um aumento da concentração de IgG₁ no soro do recém-nascido, não houve redução de eficiência na absorção de IgG₁ e não se observou um desconforto notório após a ingestão

dessa quantidade de colostro. Já a administração de 4L de colostro com uma concentração de imunoglobulinas baixa durante as primeiras 3h de vida, não resultou num aumento significativo de IgG₁ no soro do vitelo, nem às 24h, nem às 48h pós-parto, comparativamente com animais que receberam 2L apenas. Ainda no mesmo trabalho aquando a administração de um colostro com baixa qualidade realizou-se a administração em duas tomas (2L ao nascimento e 2L às 6h) o qual se revelou ser mais vantajoso do que administrar, de uma só vez, os 4L de colostro de fraca qualidade ao nascimento. Estes estudos vieram a corroborar a vantagem de administrar um volume maior, quer numa só toma, quer de forma repartida, em detrimento de um volume menor de colostro, sendo importante que a mesma se faça no máximo 6h pós-parto.

7. Maneio do colostro

Um dos factores de importância para um bom maneio do colostro é a assepsia aquando da ordenha, manipulação e armazenamento do mesmo, de modo a evitar a contaminação com microorganismos (e.g. *Salmonella* e coliformes fecais) (Doepel & Bartier, 2014; Godden, 2008; Maunsell, 2014). A importância de diminuir ao máximo esta contaminação deve-se ao facto da presença destes microorganismos reduzir a absorção de IgG no intestino, quer por haver uma ligação dos mesmos com as imunoglobulinas, quer por bloquearem directamente a absorção de IgG pelas células intestinais (Doepel & Bartier, 2014; Godden, 2008). Para além disso podem vir a causar, caso sejam patogénicos, doenças, tais como diarreias e septicemia (Maunsell, 2014). Para evitar a introdução destes agentes deve haver nas explorações um plano de higiene definido, sendo seguido à risca por todos os que estejam envolvidos no maneio do colostro. Este plano deve incluir um bom asseio dos ordenhadores, lavar as mãos antes de começar a ordenha; garantir uma boa assepsia dos tetos e úbere, ordenhar colostro para um recipiente limpo e higienizado; não fazer misturas de colostros; administrar o colostro com equipamentos limpos e higienizados; e não administrar colostro proveniente de vacas doentes (Doepel & Bartier, 2014). Apesar destas preocupações ainda existe uma grande percentagem de colostros nos quais se pode observar uma grande quantidade de bactérias (> 100.000 ufc/mL) (Doepel & Bartier, 2014), sendo este valor uma preocupação, visto que segundo as regras de boas práticas o colostro disponibilizado aos vitelos deve conter no máximo 100.000 ufc/ mL de bactérias totais e não ultrapassar os 10.000 ufc/mL de bactérias coliformes (Godden, 2008).

Durante o armazenamento é importante não permitir que o colostro fique durante muito tempo à temperatura ambiente (>2h), visto que as bactérias depressa se começam a multiplicar (Mcguirk & Collins, 2004). Para não permitir que este fenómeno ocorra deve-se, ou alimentar imediatamente o vitelo com o colostro recolhido, ou realizar algum método de conservação. Um dos métodos de conservação do colostro é a refrigeração que que realizada de forma correcta a 4°C e em recipientes de plástico, pode conservar as suas

características até uma semana pós colheita (Godden, 2008; Mcguirk & Collins, 2004). Para conservar durante períodos mais prolongados deve-se utilizar a congelação, estando demonstrada a preservação adequada das imunoglobulinas e dos nutrientes. O maior inconveniente deste método de conservação é que os componentes celulares do colostro são destruídos pela congelação (Mcguirk & Collins, 2004). Para descongelar deve-se ter o cuidado de não ultrapassar a temperatura de 60°C, para não provocar desnaturação das imunoglobulinas colostrais (Godden, 2008).

Pode-se ainda utilizar a adição de químicos, como o sorbato de potássio que ajuda a controlar a multiplicação de certas bactérias; ou o formaldeído, que utilizado em baixas concentrações (0.05%), preserva as imunoglobulinas à temperatura ambiental (Mcguirk & Collins, 2004).

Apesar destes cuidados, pode haver microorganismos que são transmitidos directamente da vaca para o colostro, como é o caso de *Mycobacterium avium* paratuberculosis, *Salmonella* spp., e várias espécies de *Mycoplasma*, para além de vários tipos de vírus. Animais que sejam portadores, clínicos ou subclínicos, destes microorganismos não devem ser dadores de colostro para alimentação dos vitelos (Maunsell, 2014).

Outro método útil para controlar a contaminação do colostro é a pasteurização. Tradicionalmente esta é atingida com o aquecimento do colostro até aos 63°C durante 30 min, ou então 72°C durante 15seg. Embora estas temperaturas sejam úteis para o controlo de microorganismos a sua utilização não é recomendada, visto que diminuem de forma significativa a concentração de imunoglobulinas no colostro e alteram a sua consistência (Mcguirk & Collins, 2004; Radostits et al., 2006). Este problema está relatado num estudo (Godden et al., 2003) onde se observou uma diminuição significativa na concentração de IgG em colostros pasteurizados, obtendo uma diminuição média, para fornadas de 96L, de 58.5%, e para fornadas de 57L, uma diminuição de 23,6%. Já em relação à concentração de IgG no soro sanguíneo, detectou-se que vitelos alimentados com colostro pasteurizado apresentavam uma concentração de imunoglobulinas menor, comparativamente a animais alimentados com colostro fresco. Em estudos mais recentes chegou-se à conclusão que diminuindo a temperatura e aumentando o tempo de exposição (60°C durante 60min), obtinha-se a eliminação, ou pelo menos uma diminuição significativa, na concentração de bactérias patogénicas no colostro (*E.coli*, *Salmonella enteritidis*, *Mycoplasma bovis* e *Mycobacterium avium* paratuberculosis), sem haver, no entanto, uma degradação de IgG e mantendo as suas características líquidas inerentes (Godden, 2008).

8. Fórmulas de substituição e suplementos ao colostro

Na prática há situações em que não está disponível colostro suficiente, quer fresco quer armazenado, para alimentar os vitelos. Esta situação é ainda mais frequente em explorações que não aproveitam colostros de determinadas vacas, quer por serem

primíparas ou por apresentarem algum tipo de doença como é o caso de animais com mastite ou positivos a infecções por *Mycobacterium avium* paratuberculosis, *Mycoplasma bovis*, vírus da leucose bovina, vírus BVD, ou *Neospora caninum*. Está comprovado que o colostro pode ser um meio de transmissão de *Mycobacterium paratuberculosis*, sendo recomendado a não administração de colostros provenientes de animais portadores desse microorganismo. Ainda pode haver animais que apresentem perda de secreção láctea antes do parto, não devendo esses colostros ser utilizados para alimentação do recém-nascido. A falta de colostro pode ser exacerbada se as explorações em causa não realizarem um protocolo de pasteurização, levando ao descarte de uma grandes quantidades de colostro. Apesar destes riscos, existem muitas explorações que não têm por hábito congelar colostro, não havendo desta forma um *stock* para casos de emergência (Godden, 2008; Mcguirk & Collins, 2004; Poulsen, Foley, Collins, & Mcguirk, 2011).

Em casos de escassez de colostro existe produtos comercializados para suplementar ou substituir o mesmo. Quando falamos em suplementos colostrais falamos em produtos em que a concentração de IgG é menor do que 100g/dose, não sendo formulados para substituírem por completo o colostro (Radostits et al., 2006), mas sim reforçar a sua acção. Existem vários produtos, de origem láctica (soro de leite; colostro), derivados de ovos de galinha e ainda derivados de soro bovino (Godden, 2008; Mcguirk & Collins, 2004; Quigley, 2004).

A absorção de IgG com origem nestes produtos derivados de soro de leite ou de colostro, está longe de ser a ideal (apenas 7%). Já com o uso de suplementos que utilizam IgG de soro bovino está comprovado o aumento da taxa de sobrevivência de vitelos recém-nascidos, quer por utilização de apenas este produto, quer com a administração com colostro materno (Quigley, 2004).

Produtos referidos como substitutos de colostro só podem ser considerados como tal se contiverem, não só uma massa adequada de IgG por dose (> 100g/dose), mas também nutrientes que o recém-nascido necessita para conseguir obter estados de homeostasia e termorregulação essenciais durante as primeiras 24h de vida. Colostro e plasma são as duas fontes economicamente mais rentáveis para obter este tipo de produto, tendo em conta as altas concentrações de imunoglobulinas (Godden, 2008; Quigley, 2004; Swan, Godden, Bey, Wells, & Fetrow, 2007). Apesar de fornecerem uma quantidade aceitável de imunoglobulinas, os animais testados com produtos de substituição num estudo realizado por Swan *et al* (2007) obtiveram concentrações de IgG menores no soro (5,8 mg/mL) do que animais que foram encolostrados com colostro materno (14,8 mg/mL). Apesar dos dados anteriores, esse mesmo estudo não detectou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, relativamente à morbidade e mortalidade. Tendo em conta estes resultados, este tipo de produtos devem ser utilizados apenas em caso de carência de colostro nas explorações (Radostits et al., 2006)

9. Falha na transferência de imunidade passiva

A transferência de imunidade da mãe para o recém-nascido, como anteriormente referido, é essencial para proteger este último durante os primeiros meses de vida. Se o vitelo não receber a quantidade adequada de IgG colostrais estamos perante uma falha de transferência de imunidade passiva (Doepel & Bartier, 2014). Está padronizado o valor (10mg/mL) correspondente à concentração mínima de IgG no soro do recém-nascido, desde o 1º até 7º dia de vida, para que se possa considerar uma transferência de imunidade passiva bem-sucedida (Beam et al., 2009). A transferência de imunoglobulinas colostrais é o principal determinante para o aparecimento ou não de doenças septicémicas durante os primeiros dias de vida, sendo em grande parte responsável também na determinação de ocorrência de mortalidade e da gravidade de doenças entéricas e respiratórias neonatais, podendo afectar ainda as performances futuras dos animais (Radostits et al., 2006). Beam *et al* (2009) chegaram à conclusão que nas explorações leiteiras dos Estados Unidos 19,2% das vitelas não obtiveram uma transferência de imunidade sucedida. Já num trabalho de Stilwell & Carvalho (2011) realizado em Portugal 38% dos vitelos machos de raça leiteira enviados para engorda apresentavam falha de transferência de imunidade.

Existem três grandes factores causais para a falha de transferência de imunidade materna: primeiro, produção colostrais insuficiente, ou de baixa qualidade; segundo, falhas na ingestão do colostro por parte do recém-nascido; terceiro, deficiências na absorção do colostro no intestino (Tizard, 2012).

10. Métodos de aferir a transferência de imunidade passiva / monitorização

Devido à importância da imunidade passiva adquirida após ingestão do colostro, é comum fazer uma monitorização da mesma através da quantificação (directa ou indirecta) das imunoglobulinas no soro sanguíneo dos recém-nascidos, com vista à realização de medidas preventivas em indivíduos em risco, ou corrigir defeitos no manejo colostrais, minimizando assim a incidência de doenças derivadas da falha de transferência de imunidade (Radostits et al., 2006). Os veterinários podem ter um papel importante nesta área, ao ajudar os produtores a realizar programas rotineiros de monitorização para avaliar o manejo do colostro na exploração.

Existem vários testes laboratoriais para averiguar o estado de imunidade dos vitelos, dividindo-se em duas categorias: testes que quantificam a concentração de IgG no soro e testes que se baseiam na estimativa de IgG através da concentração de proteínas totais presentes no soro (Doepel & Bartier, 2014; Weaver et al., 2000). Na primeira categoria podemos encontrar testes como: imunodifusão radial (RID); imunoensaio turbidométrico (TIA); e ensaio imunosorbente ligado a enzima (ELISA). Na segunda categoria incluem-se: teste da precipitação por sulfato de sódio; teste da precipitação por sulfato de zinco;

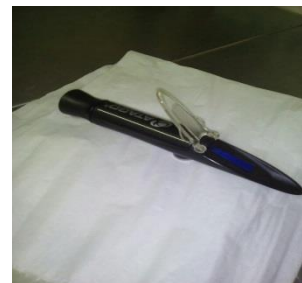
actividade da gama glutamiltransferase (GGT); teste de coagulação do glutaraldeído no sangue total; e medição de proteínas totais no soro através de refractómetro (Godden, 2008; Weaver et al., 2000). De todos estes testes, o teste *standard* para determinar a concentração de IgG no soro dos vitelos é o RID. Embora os seus resultados sejam os mais credíveis, é um teste não muito utilizado devido ao facto de ser caro e pouco prático para se realizar rotineiramente, visto a necessidade das explorações em enviar as amostras para laboratórios (Godden, 2008).

10.1. Medição de Proteína Total por refractómetro

O método utilizado no estudo apresentado nesta dissertação foi a quantificação de proteínas totais no soro sanguíneo do recém-nascido, através de refractómetro. O refractómetro é um instrumento bastante útil, pois permite uma avaliação rápida e barata da concentração de proteína em soros. Esta técnica baseia-se na medição indirecta de IgG, relacionando os níveis de proteína total no soro com a concentração de IgG e IgM (Radostits et al., 2006). Este instrumento tem como fundamento o índice de refração sofrido pela luz ao atravessar o líquido da amostra, podendo-se esperar uma maior concentração de proteínas na amostra quanto maior for o índice de refração da luz (Quigley, 2001). Para realizar este teste é necessário colher sangue a vitelos com menos de uma semana e pelo menos 6h após a ingestão do colostro (Mcguirk & Collins, 2004). Num estudo realizado em 185 vitelos por McBeath *et al* (1971) citado por Weaver *et al* (2000), observou-se uma boa correlação entre as proteínas medidas por refractómetro e as concentrações de imunoglobulinas medidas por RID ($r^2=0,72$).

Este teste foi ainda estudado por Tyler *et al.* (1996), tendo-se concluído que um valor de 5,2g/dL de proteínas totais correspondia a uma concentração de 10mg/mL de IgG no soro. No mesmo trabalho os autores admitem que o valor limite para demonstração de uma transferência de imunidade bem-sucedida possa variar de 5,0 até 5,5g/dL. Se tomarmos em consideração que para a concentração de 5,0g/dL existe um aumento na especificidade (0,96), enquanto a sensibilidade diminui (0,59), enquanto que para a concentração de 5,5g/dL existe uma diminuição na especificidade (0,94), e um aumento na sensibilidade (0,74), a escolha do valor limite deve estar relacionado com o objectivo que o utilizador pretende atingir (Weaver et al., 2000). No entanto, está actualmente padronizado o valor de >5,5g/dL como limite de êxito de transferência de imunidade.

Figura 2: Refractómetro



10.2. Teste de precipitação por sulfito de sódio

O teste de precipitação por sulfito de sódio é um teste rápido e semi-quantitativo, no qual se utilizam soluções com concentrações de 14,16 e 18% de sulfito de sódio. Este teste baseia-

se na capacidade de criar um precipitado de moléculas proteicas pesadas na qual se incluem as imunoglobulinas, esta precipitação resulta em turvação cujo grau é o objectivo final da medição. Este teste processa-se pelo aumento consecutivo de concentração do reagente de 14% para 16% e finalmente para 18%, até obter turvação da solução. Se se obter uma turvação com 14% de sulfito de sódio, significa que haverá maior concentração de moléculas proteicas pesadas na amostra do que numa amostra em que só se obtém a turvação com uma concentração de 16%, e assim subseqüentemente em relação a 18% (Weaver et al., 2000; Thrall et al, 2004). O teste classifica as amostras de soro em três intervalos de concentrações: <500 mg/dl, 500-1000mg/dl e >1500mg/dl (Thrall et al, 2004). Weaver *et al* (2000) realizou um estudo em 242 vitelos no qual todos os animais foram testados por este método, concluindo que a concentração do reagente a 18% era a mais fidedigna, em comparação com as outras duas concentrações (14 e 16%). Isto deve-se à elevada concentração de imunoglobulinas necessárias no soro para obter precipitação em 14 e 16% de reagente.

10.3. Teste de precipitação por sulfato de zinco

Este teste baseia-se nos mesmos princípios do teste com sulfito de sódio, onde ocorre a precipitação de imunoglobulinas no soro sanguíneo. Originalmente neste teste era realizado apenas uma só diluição de 1mL de soro com 6mL de 208mg/L de sulfato de zinco, mas provou-se ter resultados decepcionantes com a especificidade demasiado baixa, enquanto classificava correctamente apenas 69% dos vitelos analisados. Ao aumentar a concentração do reagente para 350mg/L observa-se uma diminuição mínima de sensibilidade, de 1 para 0.94, e um aumento significativo de especificidade, de 0.255 para 0.765, tornando-se um teste muito mais fidedigno.

10.4. Actividade da gama glutamiltransferase (GGT)

A gama glutamiltransferase (GGT) é uma enzima produzida nas células do ducto da glândula mamária, estando posteriormente presente no colostro. O fundamento deste teste prende-se com o facto de que após a ingestão do colostro por parte dos vitelos observa-se um aumento de 60 a 160 vezes na actividade da GGT, comparativamente ao observado em animais adultos, podendo-se extrapolar a concentração de IgG no soro sanguíneo (Radostits et al., 2006). Os valores de GGT no soro, correspondentes a 10mg/mL de IgG, são de 200 IU/L no primeiro dia de vida, de 100 IU/L no quarto dia e passado uma semana de vida a actividade da GGT deve ser de 75 IU/L. A falha na transferência de imunidade corresponde a valores abaixo de 50 IU/L nas primeiras duas semanas de vida (Weaver et al., 2000).

10.5. Teste de coagulação do glutaraldeído no sangue total

É um teste rápido que utiliza a ligação formada entre o glutaraldeído e as imunoglobulinas para formar um coágulo. Para se utilizar adiciona-se sangue total ao reagente, o glutaraldeído, sendo anotado o tempo necessário para formar o coágulo. Se o tempo de espera for inferior a cinco minutos é considerado que o animal em questão obteve uma transferência de imunidade bem-sucedida. Sendo preciso ter cuidado com o resultado visto a existência de reacções cruzadas com o fibrinogénio, podendo falsear o resultado (Tyler et al., 1996; Weaver et al., 2000). Num trabalho conduzido por Tyler *et al* (1996), no qual se calculou a sensibilidade e especificidade deste teste, conclui-se que apresentava uma variabilidade de valores muito grande, obtendo valores de especificidade e sensibilidade de 0,85 – 1,00 e de 0,41 – 0,00, respectivamente, sendo este inadequado para ser utilizado rotineiramente.

10.6. Outros Testes

Testes como imunodifusão radial (RID), imunoenensaio turbidométrico (TIA) e ainda ensaio imunosorbente ligado a enzima (ELISA), que apesar de serem testes creditados e úteis, baseados no pressuposto da interação entre IgG bovinas e anti-bovinas, não são considerados práticos, visto serem testes laboratoriais caros demais para a maior parte dos produtores poderem utilizar de forma rotineira (Godden, 2008). Ainda existe testes rápidos baseados em ELISA que estão comercialmente disponíveis e podem ser utilizados na exploração (Radostits et al., 2006), tendo valores de sensibilidade e especificidade de 0,93 e 0,88, respectivamente (Stilwell & Carvalho, 2011).

11. Diarreia neonatal

A denominação de diarreia neonatal é usada para casos em que ocorre diarreia aguda indiferenciada em vitelos até 30 dias de idade, sendo caracterizado por uma diarreia aquosa profusa, com desidratação progressiva e acidose metabólica, levando ao desequilíbrio iónico, podendo conduzir à morte em poucos dias (Radostits et al., 2006). Esta doença é uma das mais importantes e comuns encontradas em buiatria, apresentando taxas de morbidade bastante altas podendo rondar os 90 a 100%, em casos de grave deficiência, e taxas de mortalidade que podem chegar aos 50% (Langoni, Linhares, Avila, Da Silva, & Elias, 2004). Visto que os agentes etiológicos causam uma síndrome muito semelhante, as evidências clínicas encontradas a campo podem não ser suficientes para chegar a um diagnóstico etiológico concreto. No entanto é consensual que cerca de 75 a 95% dos casos clínicos são devidas a *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia coli*, coronavírus ou rotavírus (Radostits et al., 2006). Para além dos vários microorganismos causadores desta doença, existem ainda diversos factores que podem contribuir para a sua ocorrência, como é o caso das condições ambientais, factores intrínsecos ao animal e manejo. Este tipo de doença tem

um impacto económico directo e indirecto na vida da exploração devido aos gastos com medicamentos, diminuição da produtividade e aumento da taxa de mortalidade (Muktar, Mamo, Tesfaye, & Belina, 2015), para além de ter um enorme impacto sobre o bem-estar animal devido ao sofrimento elevado que pode causar. Este facto também afecta a imagem da exploração e mesmo do sector de produção de bovinos.

11.1. Etiologia

11.1.1. *Cryptosporidium parvum*

Cryptosporidium parvum é uma coccídea intestinal pertencente à família *Cryptosporidiidae*, existindo dois genótipos identificados (genótipo 1 e 2) sendo o genótipo 2 aquele que afecta os bovinos. Este protozoário provoca diarreias entre o 5º dia e 28º dia de vida, tendo em conta que é nos primeiros dias de vida que os bovinos se encontram em maior risco de infecção, existindo uma forte relação entre o aumento de idade e o aumento de resistência (Diveres & Peek, 2008). Embora seja normalmente uma doença auto-limitante, existem casos de mortalidade ligados a este agente (Trotz-Williams, Jarvie, Martin, Leslie, & Peregrine, 2005). A infecção por este microorganismo é reconhecida por ser muito comum em vitelos tendo uma prevalência de 70% em animais com idades compreendidas entre a 1ª e a 3ª semana de vida, estando afectadas cerca de 59,1% das explorações nos Estados Unidos (Radostits et al., 2006). No Québec foi determinado que em 505 explorações bovinas 88% das mesmas apresentavam infecção dos vitelos por *Cryptosporidium* (Trotz-Williams et al., 2005). Na Nova Zelândia a prevalência corresponde a 18% até aos 5 dias de idade aumentando para 52% em animais com 9-21 dias de idade (Mawly, Grinberg, Prattley, Moffat, & French, 2015). Já em Portugal um estudo realizado (Pereira, 2014) em 37 explorações do Alto Alentejo conclui-se que de todos os vitelos analisados, com diarreia, 61,5% apresentavam *Cryptosporidium*. Ainda em Portugal, Malcata (2014) aponta para uma prevalência de 42,7%, e Fonseca, Fazendeiro & Antunes (2001) para 21,1% no Alentejo e 34,0% no Ribatejo e Oeste.

O *Cryptosporidium parvum* após ser ingerido pelo animal, na forma de oocisto esporulado, a partir de alimento e água contaminada por fezes, é exposto aos ácidos gástricos e bÍlis levando à libertação de esporozoítos. Este esporozoÍto vai invadir, de forma preferencial, os enterócitos intestinais do íleo formando uma invaginação na membrana luminal das mesmas, denominada vacúolo parasitóforo. Posteriormente o vacúolo parasitóforo rebenta, destruindo a célula hospedeira, libertando assim os merozoítos que irão infectar outras células (Diveres & Peek, 2008; Foster & Smith, 2009).

A diarreia provocada por *Cryptosporidium* apresenta características de má-absorção, devido à perda de enterócitos que leva à atrofia das vilosidades. Caracterizando-se por apresentar diarreia profusa, aquosa e de cor amarelada, podendo os sintomas manter-se durante 3 a 15 dias (Foster & Smith, 2009; Stilwell, 2013).

11.1.2. *Escherichia coli* enterotoxinogenica

Está reconhecido que a maior causa de diarreia em vitelos, quer em vacadas de carne, quer de leite, nos primeiros quatro dias de vida é *E. coli* enterotoxinogenica (ECET) (Foster & Smith, 2009), sendo a estirpe bacteriana mais importante na causa da diarreia neonatal bovina (Stilwell, 2013).

ECET é um microorganismo bacteriano com distribuição cosmopolita, verificando-se uma variação muito grande na sua prevalência desde valores baixos como 3-6%, até valores de 30-40%, dependendo do país em questão (Radostits et al., 2006). No Brasil num estudo de Costa *et al* (1979) citado por Langoni *et al* (2004) descreve-se a presença do microorganismo em 39,3% dos animais na região de Goiana, enquanto que num estudo (Mawly et al., 2015) realizado mais recentemente na Nova Zelândia encontrou-se uma prevalência de 11%. Noutro estudo realizado por Ávila *et al* (1995) citado por Langoni *et al* (2004) a persistência de *E. coli* é de 25,1% em fezes diarreicas na região de Ribeirão Preto. Em Portugal, num trabalho (Pereira, 2014) realizado no Alto Alentejo, verificou-se que, em 37 explorações em estudo, 16,2% dos animais analisados com diarreia, apresentaram positividade a *E. coli*.

Logo após o nascimento, em condições normais, o recém-nascido é exposto a coliformes fecais não patogénicos que após ingeridos irão fazer parte da flora comensal do intestino, não originando doença, mas caso haja uma grande contaminação ambiental, a *E. coli* enterotoxinogenica pode ser ingerida em grande número podendo provocar doença (Foster & Smith, 2009). Após a ingestão deste organismo, ocorre a adesão aos enterócitos das vilosidades intestinais, preferencialmente na parte distal do intestino delgado devido ao pH mais baixo (<6,5), através da fimbria K99 (Cho & Yoon, 2014). Após a colonização do intestino, a ECET excreta uma toxina termo-estável, que para além de reduzir a absorção de água e electrólitos, promove a secreção de água e cloro para o lúmen intestinal, observando-se uma diarreia secretora (Cho & Yoon, 2014; Nagy & Fekete, 2005; Stilwell, 2013).

As fezes dos animais infectados são a fonte primária de infecção contaminando o ambiente. Os vitelos saudáveis e os adultos podem funcionar como reservatórios (Radostits et al., 2006).

A diarreia causada por ECET é caracterizada pelo aparecimento de fezes muito líquidas, rápida desidratação, podendo levar à morte. Inicialmente ocorre hipertermia evoluindo rapidamente para hipotermia devido à hipovolémia. Está presente distensão abdominal com presença de líquido nos intestinos e abomaso (Scott et al., 2004). A doença pode mesmo provocar a morte dos vitelos sem que o episódio de diarreia ocorra.

11.1.3. Rotavirus

O rotavirus é um vírus pertencente à família *Rotaviridae*, tendo por característica não apresentarem envelope. Existem 7 serogrupos (do A ao G) sendo que o grupo que mais afecta os vitelos é o grupo A, afectando animais com cerca de 1 a 2 semanas de vida, tendo um período de incubação de 12 a 24h (Cho & Yoon, 2014). Este vírus é conhecido por causar doença em conjunto com outros agentes causadores de diarreia, sendo o *Cryptosporidium* o principal microorganismo normalmente associado. Tendo sido observado a existência deste protozoário em 58% dos casos positivos a rotavirus (Radostits et al., 2006).

Em recém-nascidos saudáveis é possível encontrar uma prevalência de rotavirus do grupo A de cerca 30%. Na Turquia, mais propriamente na região de Konya, realizou-se um trabalho (Duman & Ayçan, 2010) para registar a prevalência de rotavirus nos animais das explorações, tendo-se detectado 84,9% de seropositividade em 106 amostras analisadas. Já em relação aos resultados obtidos pela análise de fezes diarreicas registou-se uma percentagem de 8,5% de animais positivos a rotavirus. Ainda na Turquia o estudo realizado por Içen et al (2013) demonstrou uma prevalência de 25% em 192 amostras de fezes diarreicas analisadas. Quanto à Nova Zelândia a prevalência foi de 46% em vitelos com até 5 dias de idade, aumentando a prevalência para 57% em vitelos com 9-21 dias de idade (Mawly et al., 2015). Na Áustria demonstrou-se uma prevalência de 9,1% das fezes diarreicas (Haschek et al., 2006). Em Portugal num estudo realizado por Pereira (2014) realizado no Alentejo, chegou à conclusão que das amostras analisadas 5,4% das diarreias neonatais eram causadas por rotavirus.

Este vírus é bastante resistente no meio ambiente, tendo como origem conspurcação com fezes de animais infectados (Radostits et al., 2006). Após ser ingerido pelos vitelos, este vírus multiplica-se no citoplasma dos enterócitos das vilosidades intestinais do intestino delgado, preferencialmente na porção distal, resultando na destruição das células afectadas, provocando uma atrofia das vilosidades, diminuindo a área de absorção (Cho & Yoon, 2014; Foster & Smith, 2009). Existe outro elemento que exacerba a gravidade da diarreia por aumentar a secreção de fluidos para o lúmen intestinal, sendo este elemento a enterotoxina viral NSP-4. Com estes mecanismos de virulência podemos caracterizar esta diarreia como sendo de cariz de má-absorção e secretora (Foster & Smith, 2009).

A infecção por rotavirus não apresenta nenhum sinal clínico específico diferenciador das outras entidades causadoras de diarreia neonatal, sendo impossível verificar através dos sinais clínicos a natureza da doença (Diveres & Peek, 2008).

As diarreias causadas pelo rotavirus são amareladas ou brancas, podendo conter muco, com desidratação e anorexia, observando-se a existência de distensão abdominal (Scott et al, 2004)

11.1.4. Coronavirus

O coronavirus é um vírus da família *Coronaviridae* conhecido como um dos principais causadores de diarreia neonatal em vitelos, sendo também descrito como causador de Disenteria de Inverno em animais adultos, e infecções respiratórias. A diarreia desencadeada por este vírus é observada em indivíduos com idades até às três semanas de idade, incidindo preferencialmente entre o sétimo e o décimo dia de vida (Cho & Yoon, 2014; Foster & Smith, 2009).

Segundo um estudo (Mayameei, Mohammadi, Yavari, Afshari, & Omid, 2010) realizado no Irão demonstrou uma prevalência de 3,17% de *Coronavirus*. Num outro estudo (Içen, Arserim, IŞIK, Özkan, & Kaya, 2013), realizado na Turquia, demonstrou-se uma prevalência de 2,1% em 192 animais com diarreia. Num estudo (Mawly et al., 2015) recente na Nova Zelândia a prevalência até aos 5 dias de idade corresponde a 14% e em vitelos com 9-21 dias de idade a prevalência aumenta para 31%. Já em Portugal, mais propriamente no alto Alentejo, a prevalência para este agente é de 8,1%, num estudo realizado em 37 explorações daquela região (Pereira, 2014)

A conspurcação do ambiente com fezes de animais infectados leva a que o vitelo ingera este vírus ligando-se, através da proteína S, aos enterócitos da parte proximal do intestino delgado, abrangendo com o passar do tempo as porções mais caudais podendo afectar o cólon. Ao microscópio podemos observar uma atrofia das vilosidades intestinais e das criptas do cólon, levando a uma síndrome de má-absorção (Cho & Yoon, 2014; Foster & Smith, 2009).

A diarreia caracteriza-se por ser amarelada evoluindo para diarreia profusa, podendo conter sangue e muco. A desidratação está presente, tal como a anorexia e depressão (Scott et al, 2004).

11.2. Outras etiologias

Para além das etiologias mais importantes referidas anteriormente, existem outras que podem provocar diarreias em vitelos recém-nascidos.

11.2.1. *Salmonella*: As bactérias da espécie *Salmonella enterica* nomeadamente através dos serovar *Typhimurium* e o *Dublin*, são as principais causadoras de salmonelose em bovinos, sendo o primeiro serovar o mais comum e com maiores taxas de mortalidade. O quadro clínico é bastante característico durante as primeiras 72h após infecção com diarreia aquosa com muco podendo apresentar sangue e fibrina, hipertermia, anorexia e a formação de pseudomembranas no intestino delgado (Cho & Yoon, 2014; Mohler, Izzo, & House, 2009). Este agente causa doença principalmente em animais com duas semanas a dois meses de vida (Diveres & Peek, 2008).

Num estudo realizado por Haschek *et al.* (2006) na Áustria demonstraram a inexistência de *Salmonella* em 230 amostras de fezes, quer diarreicas, quer sudáveis. Cho *et al.* (2013), nos EUA, determinaram uma prevalência de 9% entre os vitelos diarreicos. Noutro estudo (Raihan *et al.*, 2014) determinou-se a prevalência de 8,8% para *Salmonella*.

A infecção por *Salmonella* pode ocorrer por via oral ou nasal, e a sua multiplicação ocorre no intestino delgado, conseguindo invadir células intestinas e linfóides. Este microorganismo consegue evadir-se ao sistema imunitário devido à capacidade de invadir células fagocitárias mononucleares (Cho & Yoon, 2014; Mohler *et al.*, 2009). A diarreia observada devido à inflamação causada pela infecção levando a má-absorção e má-digestão, mas também devido à *Salmonella pathogenicity islands* (SPI1 e SPI5) que influenciam a activação do sistema de secreção tipo III.

11.2.2. Torovirus: Este vírus inicialmente denominado Breda vírus é um vírus com envelope e com uma cadeia simples de RNA pertencente à família *Coronaviridae* (Cho & Yoon, 2014; Foster & Smith, 2009; Haschek *et al.*, 2006). O Torovirus (BoTV) pode provocar diarreias moderadas de coloração amarelada a branca em vitelos com menos de três semanas de vida, apresentado hipertermia e fraqueza (Cho & Yoon, 2014; Hoet *et al.*, 2003).

Segundo Haschek *et al* (2006) a prevalência deste vírus nas fezes, quer de animais saudáveis quer de animais doentes, é de 5,2%, observando uma diferença estatisticamente significativa entre animais diarreicos e animais saudáveis. Estes resultados confirmaram as conclusões de um outro estudo (Hoet *et al.*, 2003) que descreve uma correlação entre a presença do Torovirus e o aparecimento de diarreia. Já Cho *et al* (2013) descreve uma persistência de 2,5% das fezes com diarreia.

O BoTV promove o aparecimento de diarreia por atrofiar as vilosidades intestinais devido à necrose provocada pela destruição dos enterócitos levando a diarreia por má-absorção. Este vírus situa-se preferencialmente no jejuno, ílio e cólon (Foster & Smith, 2009).

11.2.3. Norovirus bovino: O norovírus bovino (BoNoV) é um vírus RNA de cadeia simples, sem envelope, que pertence à família *Caliciviridae*, genogrupo III (Cho & Yoon, 2014).

Cho *et al* (2013) determinaram a prevalência deste vírus em fezes de animais diarreicos (44,6%) comparativamente com animais saudáveis (16,3%). Num trabalho realizado na Turquia (Yılmaz *et al.*, 2011) determinou-se que seis de entre setenta animais (8,5%) diarreicos eram positivos ao BoNoV. Já Cho & Yoon (2014) na sua revisão referem que a prevalência deste vírus pode variar de 7,5% até 49,6%.

11.2.4. Nebovirus: O nebovirus é um vírus pertencente à família *Caliciviridae*, sendo sem envelope e com cadeia simples de RNA. Existem três tipos de genótipos Newbury-1, Nebraska e Dijon (Candido *et al.*, 2016; Cho & Yoon, 2014).

Num trabalho realizado em França (Kaplon, Guenau, Asdrubal, Pothier, & Ambert-balay, 2011) determinou-se a prevalência de 7% em vitelos diarreicos. Candido *et al* (2016) realizaram um estudo no Brasil, no qual chegaram à conclusão que 4,8% das fezes analisadas apresentavam positividade para o nebovirus.

Este vírus causa atrofia das vilosidades intestinais, perda de enterócitos e hiperplasia das criptas. Estas lesões parecem apresentar-se apenas no jejuno e íleo (Cho & Yoon, 2014).

11.2.5. Clostridium spp: Está descrito a presença deste tipo de bactérias nas diarreias dos vitelos, principalmente de *Clostridium difficile* (*C. difficile*) e de *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) (Cho & Yoon, 2014; Foster & Smith, 2009).

Haschek *et al* (2006) constataram uma prevalência fecal de 9,1% de *C. perfringens* na Austria. Noutro trabalho realizado nos Estados Unidos (Hammit *et al.*, 2008) descrevem uma prevalência de *C. difficile* superior nos vitelos diarreicos (25,3%) em relação aos não diarreicos (13,2%).

Os factores de virulência conhecidos de *C. difficile* são as toxinas A e B que provocam a morte celular e inflamação da mucosa e submucosa (Foster & Smith, 2009; Hammit *et al.*, 2008).

Já *C. perfringens* tipo C, produtor das toxinas α e β , é mais frequentemente associado às diarreias em vitelos (Cho & Yoon, 2014).

11.3. Quadro Clínico

A diarreia neonatal bovina é caracterizada por fezes fluidas, podendo ter várias aparências: aquosas ou pastosas, presença variável de muco ou sangue, brancas ou amareladas.... Em vitelos doentes é comum observar-se os membros posteriores e a cauda sujos com fezes diarreicas, ficando progressivamente mais deprimidos, não se alimentando e com dificuldades em se manter em pé (Radostits *et al.*, 2006).

Os animais diarreicos podem apresentar temperaturas rectais variáveis, podendo os vitelos mais deprimidos apresentar distensão abdominal e cólicas, devido à elevada presença de fluidos no intestino delgado (Diveres & Peek, 2008).

Uma das principais consequências da diarreia é a perda de fluido extracelular levando à desidratação. Essa perda, se superior a 12%, pode levar à morte do animal. A desidratação é caracterizada por enoftalmia, persistência da prega de pele, mucosas secas e pálidas e extremidades frias (Andrews, Blowey, Boyd, & Eddy, 2004; Radostits *et al.*, 2006; Smith, 2009).

Outra consequência grave da diarreia é a acidose metabólica sendo causada, quer pela perda de iões de bicarbonato nas fezes, quer pela absorção de ácido D-láctico produzido pelas bactérias no intestino aquando a fermentação da lactose não digerida, afectando,

posteriormente, quer a função cardio-respiratória, quer o sistema nervoso central (Andrews et al., 2004; Radostits et al., 2006; Smith, 2009).

Existe ainda aumento da concentração de iões de potássio extracelular (hipercalémia), levando à redução do potencial de repouso das membranas celulares, podendo existir consequências a nível cardíaco, como bradicardia, arritmia e paragem cardíaca (Andrews et al., 2004; Stilwell, 2013).

11.4. Vacinação

A vacinação das vacas gestantes no último terço de gestação proporciona o aumento da qualidade do colostro (Radostits et al., 2006). O objectivo da vacinação é a imunização contra agentes causadores de diarreias neonatais, nomeadamente *Escherichia coli* F5, coronavírus e rotavirus. (Radostits et al., 2006). Esta vacinação tem sido comprovada como sendo útil na prevenção de diarreias neonatais (Meganck, 2015). Já noutro estudo (Morshedi, Rabbani, Salehi, Rezazadeh, & Taghipoor-Bazargani, 2010) no qual os autores se propuseram a demonstrar a presença, no colostro de vacas não vacinadas, de anticorpos contra estes agentes, chegou-se à conclusão que a percentagem (5,8%) de colostros que apresentavam anticorpos anti *E. coli* em quantidade suficiente para proteger o vitelo correspondia a uma minoria das amostras, aconselhando assim a vacinação contra este microorganismo.

SEGUNDA PARTE

Trabalho prático

12. Objectivos

- I) Determinar a prevalência de diarreia neonatal indiferenciada em vitelos de uma exploração de leite, relacionando-a com a administração de colostro descongelado ou fresco nas primeiras 6h de vida;
- II) Avaliação do efeito da vacinação com Lactovac C[®] no ante-parto no que diz respeito à prevenção de diarreias neonatais, quer em animais aos quais foi administrado colostro descongelado, quer aos quais foi administrado colostro fresco nas primeiras 6h de vida;

13. Materiais e métodos

13.1. Descrição da exploração

Este trabalho foi realizado durante o período compreendido entre 1 de Outubro de 2015 e 29 de Fevereiro na exploração de vacas de leite M. Rito Ld^a, localizada no Ladoeiro, concelho de Idanha-a-Nova.

A exploração em questão apresenta um regime de produção intensivo, com cerca de 500 vacas em lactação de raça Holstein-Frísia. Nesta exploração não se realiza normalmente um plano de vacinação para prevenção de diarreias neonatais. No entanto, o efectivo é todo vacinado contra vírus de IBR e BVD.

Após o parto os vitelos são retirados imediatamente de ao pé da mãe sendo colocados em casotas de plástico individual, com camas de palha, encontrando-se ao ar livre, durante os primeiros dois meses de vida.

A higienização das casotas faz-se por limpeza mecânica das mesmas utilizando jatos de água a alta pressão.

As vacas recém-paridas são ordenhadas mecanicamente, e à parte, para ser retirado o colostro, o qual é posteriormente armazenado em garrafas de 1,5L sendo congelado por congelação lenta dentro de uma arca congeladora. Este colostro permanece armazenado até ao máximo de um ano, após o qual é descartado. O colostro administrado aos vitelos é descongelado através da imersão das garrafas em água quente de temperatura não controlada, sendo posteriormente administrado por sonda esofágica.

Existe enfermeiro veterinário permanente.

13.2. Amostra

Os animais deste estudo foram seguidos desde o nascimento até ao primeiro mês de idade. A amostra total foi de 49 vitelos. A admissão neste estudo foi cingida apenas a animais, de sexo indiferenciado, que tenha sido administrado 3 L de colostro de boa qualidade durante as primeiras seis horas de vida. A sua distribuição por quatro grupos teve em conta as características do colostro administrado no que diz respeito à sua origem (vaca vacinada, ou não vacinada) e ao método de conservação (descongelado ou fresco).

- **Grupo₁**: Vitelos que receberam colostro descongelado de vaca não vacinada (n= 14)
- **Grupo₂**: Vitelos que receberam colostro fresco de vaca não vacinada (n=10)
- **Grupo₃**: Vitelos que receberam colostro descongelado de vaca vacinada com *Lactovac C[®]* (n=14)
- **Grupo₄**: Vitelos que receberam colostro fresco de vaca vacinada com *Lactovac C[®]* (n=11)

13.3. Desenho experimental

Neste estudo foi realizada a primo-vacinação do maior número possível de vacas múltiparas gestantes com duas injeções subcutâneas de 5 ml de *Lactovac C[®]* espaçadas de 4 a 5 semanas, sendo a segunda administrada 2 a 3 semanas antes da altura prevista do parto, sendo anotado o número de colar de cada animal para melhor acompanhamento. Após o parto foi realizada a ordenha mecânica do colostro, sendo posteriormente armazenado em garrafas de plástico de 1,5L, devidamente identificadas com a palavra “vacinado” (provenientes de vacas vacinadas), sendo congelado numa arca congeladora. Caso o colostro fosse para a administração imediata do vitelo seriam retirados 3L e o resto seria armazenado como referido anteriormente.

A descongelação foi efectuada através da imersão da garrafa com o colostro congelado dentro de um recipiente com água quente, não sendo medido a sua temperatura, deixando o colostro imerso até total descongelação.

Antes de administrar o colostro, quer descongelado, quer fresco, realizou-se o teste do colostrómetro para aferir a sua qualidade, sendo apenas administrado colostro que tenha obtido uma qualificação igual ou superior a 1,050 de gravidade específica.

A administração foi realizada através de sonda esofágica num volume de 3L de colostro em todos os animais nas suas primeiras seis horas de vida.

Em todos os animais admitidos ao estudo foi realizado, ao segundo dia de vida, a recolha de sangue para medição, por refractómetro, das proteínas totais séricas, a qual se realizou após a obtenção de soro sanguíneo através da coagulação do sangue em tubo seco.

Observou-se e registou-se a ocorrência de casos de diarreia nos vitelos em estudo durante o primeiro mês de vida. Foi considerada diarreia se as fezes dos vitelos fossem de consistência aquosa, podendo apresentar, ou não, muco, mau cheiro e/ou sangue.

Em casos de diarreia nos animais administrados com colostro imunizado (fresco ou descongelado), efectuou-se a recolha de fezes directamente do recto para pesquisa de agentes etiológicos da diarreia neonatal (*E. coli*, rotavirus, coronavírus e *C. parvum*), utilizando o teste rápido Rainbow calf scour 4[®].

13.3.1. Metodologia de colheita de elementos por Grupo:

Grupo₁:

1º) Análise, após descongelação, da qualidade do colostro de vaca não vacinada através da medição da sua densidade utilizando colostrómetro à temperatura de 20-22°C

2º) Administração por meio de sonda esofágica durante as primeiras seis horas de vida de três litros de colostro descongelado, de boa qualidade, proveniente de vaca não vacinada.

3º) Passado 48h de vida, colheita de sangue dos vitelos

4º) Separação, após coagulação sanguínea, do soro e medição das proteínas totais utilizando o refractómetro

5º) Registo de ocorrência de casos de diarreia durante o período de um mês.

Grupo₂:

1º) Análise da qualidade do colostro fresco de vaca não vacinada através da medição da sua densidade utilizando colostrómetro à temperatura de 20-22°C

2º) Administração por meio de sonda esofágica durante as primeiras seis horas de vida de três litros de colostro fresco, de boa qualidade, proveniente de vaca não vacinada.

3º) Após 48h de vida colheita de sangue dos vitelos

4º) Separação, após coagulação sanguínea, do soro e medição das proteínas totais utilizando o refractómetro

5º) Registo de ocorrência de diarreia durante o período de um mês.

Grupo₃:

1º) Análise, após descongelação, da qualidade do colostro de vaca vacinada através da medição da sua densidade utilizando colostrómetro à temperatura de 20-22°C

2º) Administração por meio de sonda esofágica durante as primeiras seis horas de vida de três litros de colostro descongelado, de boa qualidade, proveniente de vaca vacinada.

3º) Passado 48h de vida colheita de sangue dos vitelos

4º) Separação, após coagulação sanguínea, do soro e medição das proteínas totais utilizando o refractómetro

5º) Registo de ocorrência de diarreia durante o período de um mês

6º) Recolha de fezes diarreicas do recto de animais doentes para identificação de agente etiológico.

Grupo₄:

1º) Análise da qualidade do colostro fresco de vaca vacinada através da medição da sua densidade utilizando colostrómetro à temperatura de 20-22°C

2º) Administração por meio de sonda esofágica durante as primeiras seis horas de vida de três litros de colostro fresco, de boa qualidade, proveniente de vaca vacinada.

3º) Após 48h de vida colheita de sangue dos vitelos

4º) Separação, após coagulação sanguínea, do soro e medição das proteínas totais utilizando o refractómetro

5º) Registo de ocorrência de diarreia durante o período de um mês

6º) Recolha de fezes diarreicas do recto de animais doentes para identificação de agente etiológico.

13.4. Análise de amostras

Colostro

- Deixar o colostro à temperatura ambiente
- Medir regularmente a temperatura até obter uma temperatura aproximada de 20-22°C
- Retirar 250mL de colostro para um recipiente
- Colocar o hidrómetro (colostrómetro) dentro do recipiente com o colostro de modo a que flutue livremente sem tocar nas paredes ou no chão do recipiente
- Observar e registar a densidade medida pelo colostrómetro.

Proteína Total sérica

- Recolher sangue da veia jugular dos vitelos com 48h de vida, com a utilização de uma agulha para um tubo seco
- Fechar o tubo com uma tampa e deixar que o coágulo se forme levando à libertação do soro durante 24h à temperatura ambiente
- Retirar o soro com uma pipeta de Pasteur e colocar uma gota no refractómetro fechando a tampa de modo a que todo o prisma fique coberto com a amostra e sem bolhas de ar
- Medir através da escala do refractómetro a concentração de proteínas totais.

Fezes

O teste efectuado para pesquisa de agentes etiológicos da diarreia neonatal foi o *Rainbow calf scour 4*[®]; no qual se pesquisou a presença de Rotavirus, Coronavirus, factor de adesão F5 de *E. coli* K99 e *Cryptosporidium parvum*, em vitelos diarreicos aos quais foi administrado colostro imunizado.

- Recolher fezes directamente do recto do animal com diarreia através da utilização de uma colher incorporada na tampa do tubo de amostra do *Rainbow calf scour 4*[®];
- Diluir as fezes no líquido do tubo de amostra;

- Introduzir o tubo de amostra dentro do tubo com as tiras de teste;
- Esperar dez minutos até ler os resultados obtidos nas tiras de teste.

13.5. Análise estatística

O registo dos dados experimentais e tabelas foi realizado em *Microsoft Office Excel*[®]. Os testes utilizados para a execução da análise estatística foram o Qui-quadrado e o teste exacto de Fisher, tendo sido este último utilizado quando a frequência esperada foi menor que 5, tendo sido utilizado o programa de tratamento estatístico R[®] para realizar os cálculos. Foi utilizado um nível de confiança de 95%. Os cálculos foram realizados pelo autor da dissertação.

14. Resultados

14.1. Análise da população em estudo

Este estudo incluiu 49 vitelos de uma exploração leiteira, estando divididos em Grupo₁ (n=14), Grupo₂ (n=10), Grupo₃ (n=14), Grupo₄ (n=11), sendo os animais acompanhados desde o seu nascimento até ao primeiro mês de vida (Tabela 1).

A prevalência de casos de diarreia no estudo foi de 55,1% (Tabela 2).

Não houve um único animal que tivesse morrido durante a realização deste trabalho.

Tabela 1: Distribuição dos vitelos pelos grupos

	N	Percentagem (%)
Grupo ₁	14	28,57
Grupo ₂	10	20,41
Grupo ₃	14	28,57
Grupo ₄	11	22,45
Total	49	100

Tabela 2: Prevalência de diarreia no estudo

	Nº Animais	Percentagem (%)
Diarreia	27	55,10
Sem diarreia	22	44,90
Total	49	100

No que diz respeito à distribuição dos animais pelos vários valores de proteína total sérica medida através de refractómetro às 48h de vida verificou-se que todos apresentaram níveis de PT superior a 5,5 g/dL (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição dos animais pelos valores de Proteína Total Sérica

Proteína total sérica (g/dL)	Nº Animais	Percentagem (%)
[5,5; 6[26	53,06
[6; 6,5[16	32,65
[6,5; 7[5	10,20
[7; 7,5[2	4,08
Total	49	100,00

Quanto à distribuição dos animais pelos vários valores de gravidade específica medidos por colostrómetro, todos os colostros administrados obtiveram uma classificação igual ou superior a 1,050 de gravidade específica (Tabela 4).

Tabela 4: Distribuição dos animais pelos valores de gravidade específica do colostro

Gravidade específica	Nº Animais	Percentagem (%)
[1,050; 1,055[28	57,14
[1,055; 1,060[14	28,57
[1,060; 1,065[7	14,29
Total	49	100,00

14.2. Caracterização do Grupo₁ em estudo

Ao grupo dos vitelos aos quais se administrou colostro descongelado proveniente de vacas não vacinadas, foram admitidos 14 animais.

Nos valores de gravidade específica nove colostros (64,29%) obtiveram [1,050;1,055[, três colostros (21,43%) obtiveram [1,055; 1,060[e dois colostros (14,29%) obtiveram [1,060; 1,065[(Tabela 5).

Já nos valores de proteínas totais séricas observamos que seis animais (42,86%) tinham valores de [5,5; 6,0[g/dL, cinco animais (35,71%) tinham [6,0; 6,5[g/dL, dois animais (14,29%) tinham [6,5; 7,0[g/dL, um animal (7,14%) tinha [7,0; 7,5[g/dL (Tabela 6).

Neste grupo 12 animais (85,71%) fizeram diarreia (Tabela 7).

Tabela 5: Distribuição dos animais do Grupo₁ pelos valores de gravidade específica do colostro

Gravidade específica	Nº Animais	Percentagem (%)
[1,050; 1,055[9	64,29
[1,055; 1,060[3	21,43
[1,060; 1,065[2	14,29
Total	14	100,00

Tabela 6: Distribuição dos animais do Grupo₁ pelos valores de proteína total sérica

Proteína total sérica (g/dL)	Nº Animais	Porcentagem (%)
[5,5; 6,0[6	42,86
[6,0; 6,5[5	35,71
[6,5; 7,0[2	14,29
[7,0; 7,5[1	7,14
Total	14	100

Tabela 7: Prevalência de diarreia no Grupo₁

	Nº Animais	Porcentagem (%)
Diarreia	12	85,71
Sem Diarreia	2	14,29
Total	14	100

14.3. Caracterização do Grupo₂ em estudo

No grupo dos vitelos aos quais se administrou colostro fresco proveniente de vacas não vacinadas foram admitidos 10 animais.

Nos valores de gravidade específica cinco colostros (50%) obtiveram [1,050; 1,055[, quatro colostros (40%) obtiveram [1,055; 1,060[e um colostro (10%) obtiveram [1,055; 1,060[(Tabela 8).

Já nos valores de proteínas totais séricas observamos que oito animais (80%) tinham valores de [5,5; 6,0[g/dL e dois animais (20%) tinham [6,0; 6,5[g/dL (Tabela 9).

Neste grupo oito animais (80%) apresentaram diarreia (Tabela 10).

Tabela 8: Distribuição dos animais do Grupo₂ pelos valores de gravidade específica do colostro

Gravidade específica	Nº Animais	Porcentagem (%)
[1,050; 1,055[5	50,00
[1,055; 1,060[4	40,00
[1,060; 1,065[1	10,00
Total	10	100,00

Tabela 9: Distribuição dos animais do Grupo₂ pelos valores de proteína total sérica

Proteína total sérica (g/dL)	Nº Animais	Percentagem (%)
[5,5; 6[8	80,00
[6; 6,5[2	20,00
Total	10	100

Tabela 10: Prevalência de diarreia no Grupo₂

	Nº Animais	Percentagem (%)
Diarreia	8	80,00
Sem Diarreia	2	20,00
Total	10	100

14.4. Caracterização do Grupo₃ em estudo

No grupo de vitelos aos quais se administrou colostro descongelado proveniente de vacas vacinadas foram admitidos 14 animais.

Nos valores de gravidade específica cinco colostros (35,71%) obtiveram [1,050; 1,055[, seis colostros (42,86%) obtiveram [1,055; 1,060[e três colostros (21,43%) obtiveram [1,060;1,065[(Tabela 11).

Já nos valores de proteínas totais séricas observamos que oito animais (57,14%) tinham valores de [5,5; 6,0[g/dL, quatro animais (28,57%) tinham [6,0; 6,5[g/dL, e dois animais (14,29%) tinham [6,5; 7,0[g/dL (Tabela 12).

Neste grupo seis animais (42,86%) apresentaram diarreia (Tabela 13).

Tabela 11: Distribuição dos animais do Grupo₃ pelos valores de gravidade específica do colostro

Gravidade específica	Nº Animais	Percentagem (%)
[1,050; 1,055[5	35,71
[1,055; 1,060[6	42,86
[1,060;1,065[3	21,43
Total	14	100,00

Tabela 12: Distribuição dos animais do Grupo₃ pelos valores de proteína total sérica

Proteína total sérica (g/dL)	Nº Animais	Percentagem (%)
[5,5; 6,0[8	57,14
[6,0; 6,5[4	28,57
[6,5; 7,0[2	14,29
Total	14	100,00

Tabela 13: Prevalência de diarreia no Grupo₃

	Nº Animais	Percentagem (%)
Diarreia	6	42,86
Sem Diarreia	8	57,14
Total	14	100,00

14.5. Caracterização do Grupo₄ em estudo

No grupo dos vitelos ao qual se administrou colostro fresco proveniente de vacas vacinadas foram admitidos 11 animais.

Nos valores de gravidade específica nove colostros (81,82%) obtiveram [1,050; 1,055[, um colostro (9,09%) obteve [1,055;1,060[e um colostro (9,09%) obteve [1,060; 1,065[(Tabela 14).

Já nos valores de proteínas totais séricas observamos que quatro animais (36,36%) tinham valores de [5,5; 6,0[g/dL, cinco animais (45,45%) tinham [6,0; 6,5[g/dL, um animal (9,09%) tinha [6,5; 7,0[g/dL, e um animal (9,09%) tinha [7,0; 7,5[g/dL (Tabela 15).

Neste grupo um animal (9,09%) apresentou diarreia (Tabela 16).

Tabela 14: Distribuição dos animais do Grupo₄ pelos valores de gravidade específica do colostro

Gravidade específica	Nº Animais	Percentagem (%)
[1,050; 1,055[9	81,82
[1,055; 1,060[1	9,09
[1,060;1,065[1	9,09
Total	11	100,00

Tabela 15: Distribuição dos animais do Grupo₄ pelos valores de proteína total sérica

Proteína total sérica (g/dL)	Nº Animais	Percentagem (%)
[5,5; 6,0[4	36,36
[6,0; 6,5[5	45,45
[6,5; 7,0[1	9,09
[7,0; 7,5[1	9,09
Total	11	100,00

Tabela 16: Prevalência de diarreia no Grupo₄

	Nº Animais	Percentagem (%)
Diarreia	1	9,09
Sem Diarreia	10	90,91
Total	11	100,00

15. Prevalência de diarreia neonatal

15.1. Relação entre a prevalência de diarreia e a qualidade do colostro

Grupo₁

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de gravidade específica de colostro no grupo dos vitelos onde se administrou colostro descongelado proveniente de vacas não vacinadas, observa-se que a maior percentagem observada de animais com diarreia encontra-se no intervalo de [1,050;1,055[, seguido do intervalo de [1,055;1,060[e do [1,060;1,065[com percentagens correspondentes a 57,14%, 21,43% e 7,14%, respectivamente, do total de animais no grupo. No intervalo de [1,050;1,055[a percentagem de animais com diarreia (88,89%) é maior do que os animais sem diarreia (11,11%), no intervalo de [1,055;1,060[100% dos animais apresentaram diarreia, e no intervalo de [1,060; 1,065[a percentagem de animais diarreicos é idêntica aos animais saudáveis (50/50%). No total, a quantidade de animais diarreicos é maior do que animais saudáveis (85,71% e 14,29% respectivamente) (Tabela 17).

Tabela 17: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo₁

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[1,050;1,055[8	1	9
% no G1	57,14	7,14	64,29
% no intervalo	88,89	11,11	100
[1,055;1,060[3	0	3
% no G1	21,43	0	21,43
% no intervalo	100	0	100
[1,060;1,065[1	1	2
% no G1	7,14	7,14	14,29
% no intervalo	50	50	100
Total amostras	12	2	14
Total % no G1	85,71	14,29	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de gravidade específica do colostro foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,308$, sendo considerado as variáveis independentes.

Grupo₂

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de gravidade específica de colostro no grupo dos vitelos onde se administrou colostro fresco proveniente de vacas não vacinadas, observa-se que os animais com diarreia se encontram distribuídos pelos intervalos de [1,050;1,055[e [1,055;1,060[com percentagens correspondentes a 50% e 30% respectivamente do total de animais no grupo. No intervalo de [1,050;1,055[100% dos animais apresentaram diarreia, no intervalo de [1,055;1,060[75% dos animais apresentaram diarreia enquanto 25% não apresentaram diarreia, pelo contrário no intervalo de [1,060; 1,065[não houve nenhum animal com diarreia. No total, a quantidade de animais diarreicos é maior do que animais saudáveis (80% e 20% respectivamente) (Tabela 18).

Tabela 18: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo₂

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[1,050;1,055[5	0	5
% no G ₂	50	0	50
% no intervalo	100	0	100
[1,055;1,060[3	1	4
% no G ₂	30	10	40
% no intervalo	75	25	100
[1,060;1,065[0	1	1
% no G ₂	0	10	10
% no intervalo	0	100	100
Total amostras	8	2	10
Total % no G ₂	80	20	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de gravidade específica foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,089$, sendo considerado as variáveis independentes.

Grupo₃

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de gravidade específica de colostro no grupo dos vitelos onde se administrou colostro descongelado proveniente de vacas vacinadas, observa-se que os animais diarreicos se encontram distribuídos pelos intervalos de [1,050;1,055[e [1,055; 1,060[com percentagens de 21,43%, cada, do total de animais no grupo. No intervalo de [1,050;1,055[60% dos animais apresentaram diarreia, no intervalo de [1,055;1,060[50% dos animais apresentaram diarreia, já pelo contrário no intervalo de [1,060; 1,065[não houve nenhum animal com diarreia. No total, a quantidade de animais diarreicos é menor do que animais saudáveis (42,86% e 57,14% respectivamente) (Tabela 19).

Tabela 19: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo₃

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[1,050;1,055[3	2	5
% no G ₃	21,43	14,29	35,71
% no intervalo	60	40	100
[1,055;1,060[3	3	6
% no G ₃	21,43	21,43	42,86
% no intervalo	50	50	100
[1,060;1,065[0	3	3
% no G ₃	0	21,43	21,43
% no intervalo	0	100	100
Total amostras	6	8	14
Total % no G ₃	42,86	57,14	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de gravidade específica foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,326$, sendo considerado as variáveis independentes.

Grupo₄

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de gravidade específica de colostro no grupo dos vitelos onde se administrou colostro fresco proveniente de vacas vacinadas, observa-se que o único animal diarreico se encontra no intervalo de [1,050;1,055[com a percentagem de 9,09% do total de animais no grupo. No intervalo de [1,050;1,055[11,11% dos animais apresentaram diarreia, enquanto nos intervalos de [1,055;1,060[e [1,060; 1,065[não houve nenhum animal com diarreia. No total, a quantidade de animais diarreicos é menor do que animais saudáveis (9,09% e 90,91% respectivamente) (Tabela 20).

Tabela 20: Prevalência de diarreia pelos valores de gravidade específica no Grupo₄

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[1,050;1,055[1	8	9
% no G ₄	9,09	72,73	81,82
% no intervalo	11,11	88,89	100
[1,055;1,060[0	1	1
% no G ₄	0	9,09	9,09
% no intervalo	0	100	100
[1,060;1,065[0	1	1
% no G ₄	0	9,09	9,09
% no intervalo	0	100	100
Total amostras	1	10	11
Total % no G ₄	9,09	90,91	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de gravidade específica foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 1$, sendo considerado as variáveis independentes.

15.2. Relação entre a prevalência de diarreia e os valores da proteína total sérica

G₁

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de proteína total sérica no grupo dos vitelos onde se administrou colostro descongelado proveniente de vacas não vacinadas, observa-se que os animais diarreicos se encontram distribuídos pelos intervalos de [5,5;6[, [6;6,5[, e [6,5;7[com percentagens de 42,86%, 28,57% e 14,29%, respectivamente. No intervalo de [5,5;6[só se apresenta animais com diarreia (100%); no intervalo de [6;6,5[a percentagem de animais diarreicos (80%) é superior à de animais não diarreicos (20%); no intervalo de [6,5;7[só apresenta animais diarreicos (100%); e no intervalo [7,0;7,5[apresenta 100% de animais sem diarreia. No total, a quantidade de animais diarreicos é maior do que animais saudáveis (85,71% e 14,29% respectivamente) (Tabela 21).

Tabela 21: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo₁

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[5,5; 6,0[6	0	6
% no G ₁	42,86	0	42,86
% no intervalo	100	0	100
[6,0; 6,5[4	1	5
% no G ₁	28,57	7,14	35,71
% no intervalo	80	20	100
[6,5; 7,0[2	0	2
% no G ₁	14,29	0	14,29
% no intervalo	100	0	100
[7,0; 7,5[0	1	1
% no G ₁	0	7,14	7,14
% no intervalo	0	100	100
Total amostras	12	2	14
Total % no G ₁	85,71	14,29	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de proteína total sérica foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,088$, sendo considerado as variáveis independentes.

G₂

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de proteína total sérica no grupo dos vitelos onde se administrou colostro fresco proveniente de vacas não vacinadas, observa-se que os animais diarreicos se encontram distribuídos pelos intervalos de [5,5;6[e [6;6,5[com percentagens de 60% e 20%, respectivamente, do total de animais no grupo. No intervalo de [5,5;6[a percentagem de animais com diarreia (75%) é superior à percentagem de animais sem diarreia (25%) e no intervalo de [6;6,5[só se apresentam animais com diarreia (100%). No total, a percentagem de animais diarreicos é maior que a de animais saudáveis (80% e 20% respectivamente) (Tabela 22).

Tabela 22: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo₂

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[5,5; 6,0[6	2	8
% no G ₂	60	20	80
% no intervalo	75	25	100
[6,0; 6,5[2	0	2
% no G ₂	20	0	20
% no intervalo	100	0	100
Total amostras	8	2	10
Total % no G ₂	80	20	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de proteína total sérica foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 1$, sendo considerado as variáveis independentes.

G₃

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de proteína total sérica no grupo dos vitelos onde se administrou colostro descongelado proveniente de vacas vacinadas, observa-se que os animais diarreicos se encontram distribuídos pelos intervalos de [5,5;6[e [6;6,5[com percentagens de 28,57% e 14,29%, respectivamente, do total de animais no grupo. No intervalo de [5,5;6[apresenta o mesmo número de animais, quer com diarreia (50%), quer sem diarreia (50%); no intervalo de [6;6,5[apresenta o mesmo número de animais, quer com diarreia (50%), quer sem diarreia (50%); e no intervalo de [6,5;7[não existe nenhum animal com diarreia. No total, a quantidade de animais diarreicos é menor do que animais saudáveis (42,86% e 57,14%, respectivamente) (Tabela 23).

Tabela 23: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo₃

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[5,5; 6,0[4	4	8
% no G ₃	28,57	28,57	57,14
% no intervalo	50	50	100
[6,0; 6,5[2	2	4
% no G ₃	14,29	14,29	28,57
% no intervalo	50	50	100
[6,5; 7,0[0	2	2
% no G ₃	0	14,29	14,29
% no intervalo	0	100	100
Total amostras	6	8	14
Total % no G ₃	42,86	57,14	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de proteína total sérica foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,165$, sendo considerado as variáveis independentes.

G₄

Analisando a distribuição da prevalência de diarreia pelos vários valores de proteína total sérica no grupo dos vitelos onde se administrou colostro fresco proveniente de vacas vacinadas, observa-se que animais com diarreia apenas existem no intervalo de [5,0;5,5[apresentando uma percentagem de 9,09% do total de animais no grupo. No intervalo de [5,5;6[a percentagem de animais com diarreia (25%) é inferior à percentagem dos animais sem diarreia (75%), já nos intervalos de [6;6,5[, [6,5;7[e [7,0;7,5[não se apresenta qualquer animal diarreico. No total, a quantidade de animais diarreicos é menor do que animais saudáveis (9,09% e 90,91%, respectivamente) (Tabela 24).

Tabela 24: Proteína total sérica, prevalência de diarreia no Grupo₄

	Diarreia	Sem diarreia	Total
[5,5; 6,0[1	3	4
% no G ₄	9,09	27,27	36,36
% no intervalo	25	75	100
[6,0; 6,5[0	5	5
% no G ₄	0	45,45	45,45
% no intervalo	0	100	100
[6,5; 7,0[0	1	1
% no G ₄	0	9,09	9,09
% no intervalo	0	100	100
[7,0; 7,5[0	1	1
% no G ₄	0	9,09	9,09
% no intervalo	0	100	100
Total amostras	1	10	11
Total % no G ₄	9,09	90,91	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e os valores de proteína total sérica foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,546$, sendo considerado as variáveis independentes.

15.3. Relação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado *versus* fresco proveniente de mães não vacinadas

Analisando a prevalência de diarreia quer no Grupo₁ e no Grupo₂ (administrados com colostro descongelado e fresco, respectivamente), observa-se que no Grupo₁ a percentagem de animais com diarreia é de 50% do total de animais, enquanto que no Grupo₂ corresponde a 33,33%. No total, a percentagem de animais diarreicos é superior à de animais saudáveis (83,33% e 16,67%, respectivamente) (Tabela 25).

Tabela 25: Grupo₁ e Grupo₂, prevalência de diarreia

	Diarreia	Sem diarreia	Total
G ₁	12	2	14
% no G ₁	85,71	14,29	100
% Total	50	8,33	58,33
G ₂	8	2	10
% no G ₂	80	20	100
% Total	33,33	8,33	41,67
Total amostras	20	4	24
% Total	83,33	16,67	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado/fresco de vacas não vacinadas foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 1$, sendo considerado as variáveis independentes.

15.4. Relação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado *versus* fresco proveniente de mães vacinadas

Analisando a prevalência de diarreia quer no Grupo₃ e no Grupo₄ (administrados com colostro descongelado e fresco, respectivamente), observa-se que no Grupo₃ a percentagem de animais com diarreia é de 23,08% do total de animais, já no Grupo₄ corresponde a 3,85%. No total, a percentagem de animais diarreicos é inferior à de animais saudáveis (26,92% e 73,08%, respectivamente) (Tabela 26).

Tabela 26: Grupo₃ e Grupo₄, prevalência de diarreia.

	Diarreia	Sem diarreia	Total
G ₃	6	8	14
% no G ₃	42,86	57,14	100
% Total	23,08	30,77	53,85
G ₄	1	11	12
% no G ₄	8,33	91,67	100
% Total	3,85	42,31	46,15
Total amostras	7	19	26
% Total	26,92	73,08	100

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado/fresco de vacas vacinadas foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,055$, sendo considerado as variáveis independentes.

15.5. Relação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado proveniente de mães vacinadas *versus* não vacinadas

Analisando a prevalência de diarreia quer no Grupo₁ e no Grupo₃ (vitelos administrados com colostro descongelado de vaca não vacinada *versus* vacinada, respectivamente), observa-se que no Grupo₁ a percentagem de animais com diarreia é de 42,86% do total de animais, enquanto que no Grupo₃ corresponde a 21,43%. No total, a percentagem de animais diarreicos é superior à de animais saudáveis (64,29% e 35,71%, respectivamente) (Tabela 27).

Tabela 27: Grupo₁ e Grupo₃, prevalência de diarreia

	Diarreia	Sem diarreia	Total
G ₁	12	2	14
% no G ₁	85,71	14,29	100
% Total	42,86	7,14	50
G ₃	6	8	14
% no G ₃	42,86	57,14	100
% Total	21,43	28,57	50
Total amostras	18	10	28
% Total	64,29	35,71	100,00

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro descongelado de vacas vacinadas *versus* não vacinadas foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Sendo o valor de $\chi^2 = 5,6$ e $p = 0,018$, sendo considerado as variáveis dependentes, existindo associação estatística.

15.6. Relação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro fresco proveniente de mães vacinadas *versus* não vacinadas

Analisando a prevalência de diarreia quer no Grupo₂ e no Grupo₄ (vitelos administrados com colostro fresco de vaca não vacinada *versus* vacinada respectivamente), observa-se que no Grupo₂ a percentagem de animais com diarreia é de 36,36% do total de animais, enquanto que no Grupo₄ corresponde a 4,55%. No total, a percentagem de animais diarreicos é inferior à de animais saudáveis (40,91% e 59,09%, respectivamente) (Tabela 28).

Tabela 28: Grupo₂ e Grupo₄, prevalência de diarreia

	Diarreia	Sem diarreia	Total
G ₂	8	2	10
% no G ₂	80	20	100
% Total	36,36	9,09	45
G ₄	1	11	12
% no G ₄	8,33	91,67	100
% Total	4,55	50,00	55
Total amostras	9	13	22
% Total	40,91	59,09	100,00

Para testar a associação entre a prevalência de diarreia e a administração de colostro fresco de vacas vacinadas *versus* não vacinadas foi efectuado o teste exacto de Fisher. Sendo o valor de $p = 0,002$, sendo considerado as variáveis não independentes, existindo associação estatística.

15.7. Prevalência de *Cryptosporidium parvum* em diarreias de vitelos imunizados

Após utilizar o teste-rápido (*Rainbow calf scour 4[®]*) recolhendo fezes directamente do recto dos vitelos diarreicos, chegou-se ao resultado que todas as diarreias obtidas de vitelos aos quais foi administrado colostro imunizado apresentavam positividade a *C. parvum*. De sublinhar que o teste foi negativo aos restantes antigénios pesquisados, nomeadamente *E. coli*, coronavírus e rotavírus.

16. Discussão

16.1. Relação entre os valores de gravidade específica e a prevalência de diarreia

Este trabalho foi realizado utilizando apenas colostro com valores de gravidade específica igual ou superior a 1,050 visto ser este o valor limite referente à boa qualidade do colostro, tendo sido excluídos todos os animais aos quais se administrou colostros de qualidade inferior. Visto a exploração em estudo ter um cariz comercial não se realizou a administração de colostros inferiores ao limite estipulado para servirem de controlo.

Após o estudo estatístico observou-se que no Grupo₁ ($p=0,308$), Grupo₂ ($p=0,089$), Grupo₃ ($p=0,326$) e Grupo₄ ($p=1$) não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre a prevalência de diarreia e os vários valores de gravidade específica do colostro administrado, podendo estes resultados ser explicados pela natureza do próprio teste, visto basear-se na extrapolação dos valores medidos de gravidade específica com a quantidade de IgG no colostro. Esta relação, entre a gravidade específica e a IgG, não é tão forte como a relação com a quantidade de proteína total, como refere Morin *et al* (2001), explicando-se assim as variações de valores na análise do coeficiente de correlação entre o colostrómetro e a imunodifusão radial (RID) em diversos trabalhos, como é o caso de 0,77 (Bartier *et al.*, 2015), 0,63 (Quigley, Martin, Dowlen, Wallis, & Lamar, 1994) e 0,87 (Mechor, Grohn, McDowell, & Van Saun, 1992). Esta situação pode ter provocado leituras que não correspondem verdadeiramente à concentração de imunoglobulinas no colostro. A variação na concentração de IgG no colostro tem características multifactoriais, como é o caso do número de lactações da vaca, a altura do ano do parto, o tempo decorrido até à primeira ordenha e a raça (Morin, Constable, Maunsell, & McCoy, 2001). Apesar da sensibilidade do colostrómetro ser baixa e sobrestimar os valores de imunoglobulinas, continua a ser um bom teste para descartar os colostros que apresentem uma qualidade francamente má, diminuindo assim a probabilidade de administrar aos vitelos colostros com uma baixa concentração de imunoglobulinas.

16.2. Relação entre proteína total sérica e a prevalência de diarreia

Neste trabalho os valores de proteína total sérica medido através de refractómetro, traduzem uma transferência de imunidade passiva bem-sucedida em todos os animais para o limite de 5,5g/dL. Já em outros trabalhos os valores de FTP foram mais elevados, como é o caso de 1,3% (Hernandez et al., 2015) e 8,6% (Ussman, 2011), esta diferença de valores pode dever-se à utilização unicamente de colostros de boa qualidade no presente estudo, em comparação aos estudos referidos. Em trabalhos realizados recentemente observam-se altos valores de sensibilidade e especificidade (100% e 80,4% respectivamente para um valor de 5,2g/dL limite de FTP) (Hernandez et al., 2015), (76,3 % e 74,4% respectivamente para valores de 5,5g/dL) (Deelen, Ollivett, Haines, & Leslie, 2014) e (80% e 80,7% respectivamente para um valor de 5,5g/dL) (Elsohaby, McClure, & Keefe, 2015), relatando-se também uma correlação entre a proteína total sérica e a concentração de IgG ($r=0,74$) (Elsohaby et al., 2015) ($r=0,93$) (Deelen et al., 2014).

Os valores de proteína total sérica dos Grupo1 ($p=0,088$), Grupo2 ($p=1$), Grupo3 ($p=0,165$) e Grupo4 ($p=0,546$) não mostraram qualquer relação estatística com a prevalência de diarreia. Apesar de não haver relação estatística entre as variáveis, observa-se que a maior percentagem de diarreias ocorrem no vitelos com PT no intervalo de $[5,5;6,0]$ g/dL, em todos os grupos estudados. Estes valores são coerentes com outros trabalhos, como o de Ussman (2013), no qual se determinou a não associação estatística entre a incidência de diarreia e os valores de proteína total sérica.

Apesar do resultado obtido, existem outros trabalhos onde se conclui que a medição de proteína total sérica é importante para avaliar o estado de transferência de imunidade passiva dos recém-nascidos, avaliando desta forma a eficácia do manejo do colostro na exploração em causa, permitindo corrigir o seu manejo de forma a minimizar falhas na transferência de imunidade passiva em vitelos, diminuindo conseqüentemente o risco de pneumonia, a severidade das diarreias e a ocorrência de morte, aumentando os ganhos médios diários dos animais (Kananub, Rukkwamsuk, & Arunvipas, 2013; Nocek, Braund, & Warner, 1984; Pardon et al., 2015; Robison, Stott, & DeNise, 1988; Windeyer et al., 2014). Isto vai-se reflectir no saldo financeiro da exploração, visto que em média, para cada vitelo com falha de transferência passiva, comporta percas de capital na ordem dos 60€ e 80€, quer sejam vitelos de leite ou carne, respectivamente (Raboisson, Trillat, & Cahuzac, 2016).

16.3. Prevalência de diarreia e a administração de colostro de vacas vacinadas versus não vacinadas

Procedeu-se à administração de colostro de vacas vacinadas e não vacinadas, com o objectivo de estudar a prevalência de diarreia nas suas crias. Os vitelos que receberam colostro de vacas não-vacinadas foram distribuídos por dois grupos: Grupo₁ (receberam

colostro descongelado) e Grupo₂ (receberam colostro fresco). De igual modo dividiu-se os animais que receberam colostro de vacas vacinadas em Grupo₃ (descongelado) e Grupo₄ (fresco). Ao comparar a prevalência de diarreia nos grupos que receberam colostro descongelado (Grupo₁ e Grupo₃), podemos observar uma diferença significativa ($p=0,018$), havendo igualmente diferença significativa entre os grupos de colostro fresco (Grupo₂ e Grupo₄) ($p=0,002$). Esta diferença pode dever-se à presença de maior concentração de anticorpos específicos para os agentes causadores de diarreia em recém-nascidos, neste caso *E.coli*, Coronavírus e Rotavírus, no colostro proveniente de vacas vacinadas. Num trabalho de Wasmoen *et al* (2011) demonstrou-se uma diminuição na gravidade e mortalidade de diarreias em animais aos quais se administrou colostro imunizado ($p=0,0007$ e $p=0,0382$, respectivamente). Já noutro estudo (Castrucci *et al.*, 1987) com colostro de vacas imunizadas contra rotavírus, observou-se uma diminuição de incidência de diarreia em vitelos que receberam colostro imunizado (2,8%) comparativamente com animais que receberam colostro sem imunização (40,9%).

16.4. *Cryptosporidium parvum*

Apesar da vacinação pôde observar-se, no presente estudo, a presença de animais diarreicos. Posteriormente foi identificado *Cryptosporidium parvum* como agente causador de todos estes casos de diarreias. Num trabalho realizado nos Açores a prevalência deste protozoário era de cerca de 54,9% (Barros, 2015)

A higiene da exploração e a introdução de medidas profiláticas, são dois pilares para controlar ou erradicar este protozoário do efectivo. Segundo um trabalho recente (Meganck, Hoflack, Piepers, & Opsomer, 2015) no qual se implementou um programa de prevenção de diarreias neonatais com dois passos (vacinação das vacas contra *E. coli*, Rotavírus e coronavírus, e administração durante 7 dias de lactato de halofuginona), observou-se uma diminuição da diarreia no grupo teste ($p<0,01$). O mesmo estudo expressa o sucesso de um protocolo profilático com a combinação de colostro imunizado e lactato de halofuginona, embora existam outros estudos que não detectam diferença entre a utilização e a não utilização de halofuginona como é o caso de Trotz-Williams, Jarvie, Martin, Leslie, & Peregrine (2002), Almawly *et al.*(2013). Neste último trabalho referido, os autores afirmam que será importante o controlo de outros organismos causadores de diarreia neonatal, para que a halofuginona seja efectiva. Já noutro trabalho (Waele, Speybroeck, Berkvens, Mulcahy, & Murphy, 2010) os autores relatam que a combinação de lactato de halofuginona e a individualização dos vitelos em casotas diminui a incidência de diarreia.

Para além do que já foi referido anteriormente outros cuidados são necessários, como é o caso da limpeza das maternidades, a boa higienização das casotas dos vitelos, boa higienização dos materiais utilizados na alimentação e o tempo de contacto vaca/vitelo deve ser o mais curto possível (Wyatt, Riggs, & Fayer, 2010). Existem evidências da diminuição

do risco de infecção em animais alojados em instalações desinfectadas previamente com lixívia ou cal, sendo menor também o risco em explorações que apresentem o chão de cimento (Castro-hermida, González-losada, & Ares-mazás, 2002). Outro ponto importante de referir é a existência de evidências da veiculação de oocistos através da água de bebida, comprovando-se a sua existência em zonas de captação de água (Lobo, Xiao, Antunes, & Matos, 2009; Fonseca, Fazendeiro & Antunes, 2001). O carvão activado administrado por via oral em animais infectados com *Cryptosporidium parvum*, demonstrou reduzir a excreção de oocistos e os casos de diarreia diarreia (Watarai, Tana & Koiwa, 2008).

No presente estudo o diagnóstico efectuado para *C. parvum* prova que o único agente, dos contemplados no teste, que apresentou positividade, correspondia ao mesmo agente que não foi contemplado no plano profilático. Quanto ao maneio da exploração onde decorreu este estudo não são utilizados agentes desinfectantes na limpeza das casotas dos vitelos, e o maneio das camas da maternidade não parece ser o melhor, podendo isso levar a uma perpetuação do microorganismo no efectivo. Para diminuir a ocorrência de diarreia causada por este protozoário, para além das boas práticas de maneio de camas e de higiene, pode-se recorrer também à utilização de fármacos como o lactato de halofuginona e o carvão activado.

16.5. Prevalência de diarreia e a administração de colostro fresco ou descongelado

Em relação à diferença na prevalência de diarreia entre animais que receberam colostro fresco *versus* colostro descongelado, verificámos que não houve diferença estatística entre os grupos que receberam colostro de vacas não vacinadas, o mesmo aconteceu ($p=0,055$) entre aqueles que beberam colostros provenientes de vacas vacinadas. A não diferença estatística entre os dois primeiros grupos pode dever-se ao facto de existir uma grande carga infectante de microorganismos causadores de diarreia no efectivo, não havendo possibilidade de observar efeitos notórios na diminuição da prevalência de diarreia entre animais administrados com colostro fresco e com colostro descongelado. Quanto aos dois últimos grupos, embora não exista uma diferença estatística podemos observar uma forte tendência de diminuição de diarreia no colostro fresco, isto pode ter a ver à utilização colostros imunizados, podemos afirmar que, possivelmente, com a vacinação conseguimos aumentar a capacidade de resistência dos vitelos aos agentes causadores de diarreia aumentando a quantidade de imunoglobulinas específicas, podendo assim averiguar se existiria ou não alguma diferença entre o colostro descongelado e fresco na prevenção de diarreia nos animais. Esta tendência (Grupo₃ e Grupo₄) pode ser derivada à diferença na imunidade celular (leucócitos) entre os dois tipos de colostros, visto que devido à congelação os leucócitos presentes no colostro podem ter sofrido lise. Esta possibilidade apoia-se no facto da importância dos leucócitos colostrais no desenvolvimento do sistema imunitário do recém-nascido (Reber, Lockwood, Hippen, & Hurley, 2006) sendo importantes

na resposta imunitária primária e promovendo a produção de anticorpos, observando-se ainda um aumento na actividade das lisozimas e maior actividade bactericida (Meganck, Opsomer, Piepers, Cox, & Maria, 2016). Num estudo recente, (Langel, Wark, Garst, James, & McGilliard, 2015) comprovou-se o aumento nas células T CD4⁺, CD4⁺CD62L⁺CD45RO⁺ e CD4⁺CD62L⁺CD45RO⁻ no sangue dos vitelos que receberam colostro fresco comparativamente com os vitelos que receberam colostro congelado. Estas células, segundo o autor, podem ter um papel muito importante na protecção específica contra certos antígenos no primeiro mês de vida dos vitelos, sendo estas células conhecidas por serem células de memória. Estas células poderão estar relacionadas com o resultado obtido no presente trabalho, no qual se verificou uma tendência nos animais aos quais se administrou colostro fresco imunizado *versus* colostro descongelado imunizado, podendo as células ter sofrido lise celular derivado à congelação do colostro, levando a uma maior resistência dos animais administrados com colostro fresco. Noutro trabalho (Donovan et al., 2007) onde vacinaram as vacas em final de gestação contra o Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) e se propuseram a estudar o efeito das células e componentes celulares colostrais na resposta imunitária dos vitelos, observaram que ao administrar colostro fresco aos recém-nascidos a resposta imunitária era maior do que em animais administrados com colostro congelado.

Outra causa que poderá ter sido importante na diminuição de ocorrência de diarreia entre os dois grupos (Grupo₃ e Grupo₄) poderá estar relacionado com deficiências na descongelação do colostro, podendo levar a perdas na concentração de imunoglobulinas. Este problema foi estudado recentemente (Balthazar, Doligez, Leray, & Cozler, 2015) tendo sido comprovado que na descongelação cerca de 20% da IgG1 é perdida por desnaturação, sendo esta perda de imunoglobulinas mais dramática a temperaturas superiores a 60°C, levando o autor a recomendar utilizar banhos-maria de 40 a 60°C para evitar ao máximo a perda de IgG.

Visto este resultado será importante realizar outros estudos sobre este assunto para confirmar, ou não, a existência de relação entre a diminuição de diarreia e a administração de colostro fresco.

17. Considerações finais

Devido ao facto do estudo ter sido realizado numa exploração de cariz comercial e a impossibilidade, devido à falta de tempo, em contemplar os diversos factores implícitos a este estudo, o presente trabalho apresenta algumas limitações. No entanto, aponta algumas pistas que podem ser exploradas por estudos subsequentes, sendo que algumas alterações podem ser aconselhadas, nomeadamente:

- Realizar controlo na descongelação do colostro, de modo a diminuir o máximo possível a desnaturação proteica;
- Realização do estudo não só sobre a prevalência de diarreia, como também sobre a

diminuição da sua gravidade, através do registo do exame físico diário de cada vitelo, de forma, a que se possa comparar a gravidade e duração da doença;

- O número total de amostras deverá ser maior com vista à diminuição da probabilidade dos resultados serem derivados ao acaso;
- Abranger mais explorações no estudo, comparando entre si os resultados obtidos, de modo a concluir se os resultados obtidos em cada exploração são idênticos;

Seria também importante estudar mais aprofundadamente a importância inerente dos leucócitos colostrais na imunidade neonatal, de modo a concluir se a congelação do colostro poderia resultar na mitigação da acção da imunidade passiva devido à morte celular.

18. Conclusão

Neste estudo observou-se a não associação entre os valores da gravidade específica do colostro e a prevalência de diarreia. Aconteceu o mesmo para os valores de proteína total sérica e a prevalência de diarreia.

A vacinação profiláctica com Lactovac C[®] para a protecção contra *E. coli*, Rotavirus e Coronavirus, provou ser eficaz na diminuição da ocorrência de diarreias, por estes agentes, em vitelos recém-nascidos, sendo provavelmente causado pelo aumento de imunoglobulinas específicas transmitidas aos vitelos pelo colostro.

Em relação à administração de colostro descongelado ou fresco provenientes de vacas vacinadas, os valores de prevalência de diarreia neonatal foram superiores em vitelos que receberam colostro descongelado, demonstrando uma forte tendência para diminuição de diarreias em animais administrados com colostro fresco, sem no entanto obter uma diferença estatística, podendo este resultado ser explicado pela transferência de leucócitos vivos existentes no colostro fresco, contrariamente ao que acontece no descongelado, conferindo uma melhor imunidade passiva. Estes resultados precisam de ser confirmados com a realização de mais trabalhos que foquem esta área, visto que estudos realizados são escassos e este tema ainda é mal compreendido.

Observou-se ainda uma grande prevalência de *Cryptosporidium parvum* provavelmente devido à não existência de medidas profiláticas, exacerbado pelo mau maneio da higiene da maternidade e das casotas dos vitelos, levando à perpetuação do organismo na exploração.

Futuramente é de grande interesse que mais trabalhos sejam realizados nesta área, visto que a diarreia neonatal é uma doença importante nas explorações bovinas, podendo levar à morte de animais e a perdas financeiras consideráveis.

19. Bibliografia

- Almawly, J., Prattley, D., French, N. P., Lopez-villalobos, N., Hedgespeth, B., & Grinberg, A. (2013). Veterinary Parasitology Utility of halofuginone lactate for the prevention of natural cryptosporidiosis of calves , in the presence of co-infection with rotavirus and Salmonella Typhimurium. *Veterinary Parasitology*, 197(1-2), 59–67. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.029>
- Andrews, A. H., Blowey, R. W., Boyd, H., & Eddy, R. G. (2004). *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle* (2nd ed.).
- Balthazar, E., Doligez, E., Leray, O., & Cozler, Y. L. E. (2015). A comparison of thawing methods on IgG1 concentration in colostrum of dairy cows. *Revue Méd. Vét.*, 166, 341–344.
- Barros, S. V. A. (2015). *Contribuição para o estudo da criptosporidiose em vitelos de explorações leiteiras da ilha Terceira, Açores*. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Bartier, A. L., Windeyer, M. C., & Doepel, L. (2015). Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1878–1884. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-8415>
- Beam, A. L., Lombard, J. E., Koprak, C. A., Garber, L. P., Winter, A. L., Hicks, J. A., & Schlater, J. L. (2009). Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *Journal of Dairy Science*, 92(8), 3973–3980. <http://doi.org/10.3168/jds.2009-2225>
- Bielmann, V., Gillan, J., Perkins, N. R., Skidmore, A. L., Godden, S., & Leslie, K. E. (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(8), 3713–3721. <http://doi.org/10.3168/jds.2009-2943>
- Candido, M., Alencar, A. L. F., Buzinaro, M. G., Munin, F. S., Godoy, S. H. S., Livonesi, M. C., ... Sousa, R. L. M. (2016). SHORT REPORT: First detection and molecular characterization of Nebovirus in Brazil. *Epidemiol. Infect.*, 144, 1876–1878. <http://doi.org/10.1017/S0950268816000029>
- Castro-hermida, J. A., González-losada, Y. A., & Ares-mazás, E. (2002). Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Veterinary Parasitology*, 106, 1–10.
- Castrucci, G., Frigeri, F., Angelillo, V., Ferrari, M., Cilli, V., & Aldrovandi, V. (1987). FIELD TRIAL EVALUATION OF AN INACTIVATED ROTAVIRUS VACCINE AGAINST NEONATAL DIARRHEA OF CALVES. *European Journal of Epidemiology*, 3(1), 5–9.

- Cho, Y., & Yoon, K. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology , diagnosis , and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15, 1–17.
- Conneely, M., Berry, D. P., Sayers, R., Murphy, J. P., Lorenz, I., Doherty, M. L., & Kennedy, E. (2013). Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal*, 1824–1832. <http://doi.org/10.1017/S1751731113001444>
- Cortese, V. S. (2009). Neonatal Immunology. *Veterinary Clinics of NA: Food Animal Practice*, 25(1), 221–227. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.003>
- Deelen, S. M., Ollivett, T. L., Haines, D. M., & Leslie, K. E. (2014). Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3838–3844. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-7939>
- Diveres, T. J., & Peek, S. F. (2008). *Rebhun's Diseases of dairy cattle* (2^a ed.). St. Louis: Elsevier.
- Doepel, L., & Bartier, A. (2014). Colostrum Management and Related to Poor Calf Immunity. *WCDS Advances in Dairy Technology*, 26, 137–149.
- Donovan, D. C., Reber, A. J., Gabbard, J. D., Aceves-avila, M., Galland, K. L., Holbert, K. A., ... Hurley, D. J. (2007). Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves. *AJVR*, 68.
- Duman, R., & Aycan, A. E. (2010). Prevalence of Rotavirus infections in calves with diarrhea in Konya region. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 136–138.
- Elsohaby, I., McClure, J. T., & Keefe, G. P. (2015). Evaluation of Digital and Optical Refractometers for Assessing Failure of Transfer of Passive Immunity in Dairy Calves. *Journal of Veterinary Intern Medicine*, 721–726. <http://doi.org/10.1111/jvim.12560>
- El-Zahar, K. M., El-Loly, M. M., & Abdel-ghany, A. S. (2015). Gross antibodies , chemical composition of bovine milk and its influence by thermal stability. *African Journal of Agricultural Research*, 10, 2170–2179. <http://doi.org/10.5897/AJAR2014.9101>
- Fonseca, I. Pereira; Fazendeiro, Isabel; Antunes, Francisco (2001). Genetic Characterization of *Cryptosporidium parvum* Isolates from Cattle in Portugal: Animal and Human Implications. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 48, 32-33
- Foster, D. M., & Smith, G. W. (2009). Pathophysiology of Diarrhea in Calves. *Veterinary Clinics of NA: Food Animal Practice*, 25(1), 13–36. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.013>
- Godden, S. (2008). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics Food Animal Prattice*, 24, 19–39. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.005>

- Godden, S. M., Haines, D. M., Konkol, K., & Peterson, J. (2009). Improving passive transfer of immunoglobulins in calves . II : Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1758–1764. <http://doi.org/10.3168/jds.2008-1847>
- Godden, S. M., Smith, S., Feirtag, J. M., Green, L. R., Wells, S. J., & Fetrow, J. P. (2003). Effect of On-Farm Commercial Batch Pasteurization of Colostrum on Colostrum and Serum Immunoglobulin Concentrations in Dairy Calves. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1503–1512. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73736-9](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73736-9)
- Guy, M. A., Mcfadden, T. B., Cockrell, D. C., & Besser, T. E. (1994). Regulation of Colostrum Formation in Beef and Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 3002–3007.
- Hammit, M. C., Bueschel, D. M., Keel, M. K., Glock, R. D., Cuneo, P., Deyoung, D. W., ... Songer, J. G. (2008). A possible role for Clostridium difficile in the etiology of calf enteritis. *Veterinary Microbiology*, 127, 343–352. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.09.002>
- Hansen, H. S. (2007). Calf Management, Steinkjer, Norway, 20-22 June 2007: Proceedings from the conference.
- Haschek, B., Klein, D., Benetka, V., Herrera, C., Sommerfeld-Stur, I., Vilcek, S., ... Baumgartner, W. (2006). Detection of Bovine Torovirus in Neonatal Calf Diarrhoea in Lower Austria and Styria (Austria). *Journal of Veterinary Medicine*, 53(4), 160–165.
- Heinrichs, J., Jones, C., Ishler, V., State, P., Schurman, E., & State, P. (2011). Colostrum Management Tools : Hydrometers and Refractometers. *Dairy & Animal Science*.
- Hernandez, D., Nydam, D. V, Godden, S. M., Bristol, L. S., Kryzer, A., Ranum, J., & Schaefer, D. (2015). Brix refractometry in serum as a measure of failure of passive transfer compared to measured immunoglobulin g and total protein by refractometry in serum from dairy calves. *The Veterinary Journal*. <http://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.11.004>
- Hoet, A. E., Nielsen, P. R., Hasoksuz, M., Thomas, C., Wittum, T. E., & Saif, L. J. (2003). Detection of bovine torovirus and other enteric pathogens in feces from diarrhea cases in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 15, 205–212.
- Hogan, I., Doherty, M., Fagan, J., Kennedy, E., Conneely, M., Brady, P., ... Lorenz, I. (2015). Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine. *Irish Veterinary Journal*, 1–10. <http://doi.org/10.1186/s13620-015-0047-0>
- Içen, H., Arserim, N. B., IŞIK, N., Özkan, C., & Kaya, A. (2013). Prevalence of Four Enteropathogens with Immunochromatographic Rapid Test in the Feces of Diarrheic Calves in East and Southeast of Turkey. *Pakistan Veterinary Journal*, 8318, 2009–2012.

- Kananub, S., Rukkwamsuk, T., & Arunvipas, P. (2013). Influence of colostrum quality on serum proteins in dairy calves raised in smallholder farms in Thailand. *Trop Anim Health Prod*. <http://doi.org/10.1007/s11250-013-0414-3>
- Kaplon, J., Guenau, E., Asdrubal, P., Pothier, P., & Ambert-balay, K. (2011). Possible Novel Nebovirus Genotype in Cattle , France. *Emerging Infectious Diseases*, 17(6), 7–10. <http://doi.org/10.3201/eid1706.100038>
- Kehoe, S. I., Jayarao, B. M., & Heinrichs, A. J. (2007). A Survey of Bovine Colostrum Composition and Colostrum Management Practices on Pennsylvania Dairy Farms. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4108–4116. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0040>
- Lacerda, R. C. P. (2014). *Impacto económico da diarreia neonatal em explorações extensivas de bovinos de carne no concelho de Moura*. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Langel, S. N., Wark, W. A., Garst, S. N., James, R. E., & Mcgilliard, M. L. (2015). Effect of feeding whole compared with cell-free colostrum on calf immune status : The neonatal period. *Journal of Dairy Science*, 98(6), 3729–3740. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-8422>
- Langoni, H., Linhares, A. C., Avila, F. A., Da Silva, A. V., & Elias, A. O. (2004). Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in São Paulo state , Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 41, 313–319.
- Larson, B. L., Jr, H. L. H., & Devery, J. E. (1980). Immunoglobulin Production and Transport by the Mammary Gland. *Journal of Dairy Science*, 63(4), 665–671. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82988-2](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82988-2)
- Leslie, K. E., & Peregrine, A. S. (2008). Passive Immunity in Ontario Dairy Calves and Investigation of Its Association with Calf Management Practices. *Journal of Dairy Science*, 91(10), 3840–3849. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0898>
- Lobo, M. L., Xiao, L., Antunes, F., & Matos, O. (2009). Occurrence of Cryptosporidium and Giardia genotypes and subtypes in raw and treated water in Portugal. *The Society for Applied Microbiology*, 48, 732–737. <http://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02605.x>
- Lorenz, I., Mee, J. F., Earley, B., & More, S. J. (2011). Calf health from birth to weaning . I . General aspects of disease prevention, 1–8.
- Malcata, F. C. B. (2014). *Prevalência e controlo dos parasitas gastrointestinais em explorações bovinas leiteiras em Portugal continental*. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Maunsell, F. (2014). Cow Factors That Influence Colostrum Quality. *WCDS Advances in Dairy Technology*, 26, 113–121.

- Mawly, J. Al, Grinberg, A., Prattley, D., Moffat, J., & French, N. (2015). Prevalence of endemic enteropathogens of calves in New Zealand dairy farms. *Scientific Article Prevalence of endemic enteropathogens of calves in New Zealand dairy farms. New Zealand Veterinary Journal*, (May 2015), 37–41. <http://doi.org/10.1080/00480169.2014.966168>
- Mayameei, A., Mohammadi, G., Yavari, S., Afshari, E., & Omid, A. (2010). Evaluation of relationship between Rotavirus and Coronavirus infections with calf diarrhea by capture ELISA. *Comp. Clin. Pathol.*, 19, 553–557. <http://doi.org/10.1007/s00580-009-0920-x>
- McGuirk, S. M., & Collins, M. (2004). Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *20(2004)*, 593–603. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2004.06.005>
- Mechor, G. D., Grohn, Y. T., McDowell, L. R., & Van Saun, R. J. (1992). Specific Gravity of Bovine Colostrum Immunoglobulins as Affected by temperature and colostrum components. *Journal of Dairy Science*, (9), 3131–3135. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78076-X](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78076-X)
- Meganck, V., Goddeeris, B. M., Stuyven, E., Piepers, S., Cox, E., & Opsomer, G. (2014). Development of a method for isolating bovine colostrum mononuclear leukocytes for phenotyping and functional studies. *The Veterinary Journal*. <http://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.02.021>
- Meganck, V., Hoflack, G., Piepers, S., & Opsomer, G. (2015). Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 118(1), 64–70. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.11.007>
- Meganck, V., Opsomer, G., Piepers, S., Cox, E., & Maria, B. (2016). Maternal colostrum leukocytes appear to enhance cell-mediated recall response, but inhibit humoral recall response in prime – boost vaccinated calves. *Journal of Reproductive Immunology*, 113, 68–75. <http://doi.org/10.1016/j.jri.2015.11.004>
- Mohler, V. L., Izzo, M. M., & House, J. K. (2009). Salmonella in Calves. *Veterinary Clinics of NA: Food Animal Practice*, 25(1), 37–54. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.009>
- Morin, D. E., Constable, P. D., Maunsell, F. P., & McCoy, G. C. (2001). Factors Associated with Colostrum Specific Gravity in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 84(4), 937–943. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74551-1](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74551-1)
- Morin, D. E., McCoy, G. C., & Hurley, W. L. (1997). Effects of Quality, Quantity, and Timing of Colostrum Feeding and Addition of a Dried Colostrum Supplement on Immunoglobulin G 1 Absorption in Holstein Bull Calves. *Journal of Dairy Science*, 80(4), 747–753. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75994-0](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75994-0)
- Morin, D. E., Nelson, S. V., Reid, E. D., Nagy, D. W., Dahl, G. E., & Constable, P. D. (2010).

Effect of colostrum volume, interval between calving and first milking, and photoperiod on colostrum IgG concentrations in dairy cows. *JAVMA*, 237(4).

- Morshedi, A., Rabbani, M., Salehi, Z., Rezazadeh, F., & Taghipoor-Bazargani, T. (2010). Evaluation of antibodies levels against *Escherichia coli*, rotavirus and coronavirus in the colostrum of non - vaccinated cows in southern. *International Journal of Veterinary Research*, 217–219.
- Muktar, Y., Mamo, G., Tesfaye, B., & Belina, D. (2015). A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 7, 173–185. <http://doi.org/10.5897/JVMAH2014>.
- Muller, L. D., & Ellinger, D. K. (1981). Colostrum Immunoglobulin Concentrations Among Breeds of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 64, 1727–1730. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82754-3](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82754-3)
- Nagy, B., & Fekete, P. Z. (2005). Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *International Journal of Medical Microbiology*, 295, 443–454. <http://doi.org/10.1016/j.ijmm.2005.07.003>
- NAHMS. (2016). Dairy 2014: Dairy Cattle Management Practices in the United States, 2014.
- Nocek, J. E., Braund, D. G., & Warner, R. G. (1984). Influence of Neonatal Colostrum Administration, Immunoglobulin, and Continued Feeding of Colostrum on Calf Gain, Health, and Serum Protein. *Journal of Dairy Science*, 67, 319–333. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81305-3](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81305-3)
- Pardon, B., Alliët, J., Boone, R., Roelandt, S., Valgaeren, B., & Deprez, P. (2015). Prediction of respiratory disease and diarrhea in veal calves based on immunoglobulin levels and the serostatus for respiratory pathogens measured at arrival. *PREVET*. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.04.009>
- Pereira, C. I. C. (2014). *Estudo de agentes prevalentes de diarreias neonatais e medidas preventivas na região Sul do Tejo*. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa.
- Poulsen, K. P., Foley, A. L., Collins, M. T., & Mcguirk, S. M. (2011). Comparison of passive transfer of immunity in neonatal dairy calves fed colostrum or bovine serum-based colostrum replacement and colostrum supplement products. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 237, 949–954. <http://doi.org/10.2460/javma.237.8.949>. Comparison
- Quigley, J. (2001). Calf Note # 39 – Using a refractometer, 1–5.
- Quigley, J. (2004). The role of oral immunoglobulins in systemic and intestinal immunity of neonatal calves.
- Quigley, J. D., & Drewry, J. J. (1998). SYMPOSIUM: PRACTICAL CONSIDERATIONS OF

TRANSITION COW AND CALF MANAGEMENT Nutrient and Immunity Transfer from Cow to Calf Pre- and Postcalving. *Journal of Dairy Science*, 81(10), 2779–2790. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75836-9](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75836-9)

Quigley, J. D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P., & Polo, J. (2013). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 96, 1148–1155. <http://doi.org/10.3168/jds.2012-5823>

Quigley, J. D., Martin, K. R., Dowlen, H. H., Wallis, L. B., & Lamar, K. (1994). Immunoglobulin Concentration, Specific Gravity, and Nitrogen Fractions of Colostrum from Jersey Cattle. *Journal of Dairy Science*, 77, 264–269. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)76950-2](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)76950-2)

Raboisson, D., Trillat, P., & Cahuzac, C. (2016). Failure of Passive Immune Transfer in Calves : A Meta-Analysis on the Consequences and Assessment of the Economic Impact. *PLoS ONE*, 1–19. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0150452>

Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., & Constable, P. (2006). *VETERINARY MEDICINE: A textbook of cattle, sheep, goats, pigs and horses* (10th Editi). SAUNDERS Ltd.

Raihan, A., Ansari, M. I. H., Rahman, M., Islam, Z., Das, B. C., Habib, A., ... Islam, K. (2014). Prevalence and Antimicrobial Resistance Profile of Escherichia Coli and Salmonella Isolated from Diarrheic Calves. *Journal of Animal Health and Production*, 2, 12–15.

Rastani, R. R., Grummer, R. R., Bertics, S. J., Gumen, A., Wiltbank, M. C., Mashek, D. G., & Schwab, M. C. (2005). Reducing Dry Period Length to Simplify Feeding Transition Cows : Milk Production , Energy Balance , and Metabolic Profiles Reducing Dry Period Length to Simplify Feeding Transition Cows : *Journal of Dairy Science*, 88, 1004–1014. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72768-5](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72768-5)

Reber, A. J., Lockwood, A., Hippen, A. R., & Hurley, D. J. (2006). Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 109, 139–150. <http://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.08.014>

Robison, J. D., Stott, G. H., & DeNise, S. K. (1988). Effects of Passive Immunity on Growth and Survival in the Dairy Heifer. *Journal of Dairy Science*, 71, 1283–1287. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79684-8](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79684-8)

Rodrigues, T. C. N., Braz, M. R., Carolino, N., Carreira, M. C. F., & Stilwell, G. T. (2014). Mortalidade peri-natal e juvenil em explorações leiteiras portuguesas Perinatal mortality in Portuguese dairy herds. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 109, 26–32.

Smith, B. P. (2009). *Large Animal Internal Medicine* (4th ed.). Elsevier.

- Scott, P.R., Hall, G.A., Jones, P.W. & Morgan, J.H. (2004). Calf Diarrhoea. In A.H. Andrews. *Bovine Medicine: diseases and husbandry of cattle* (2nd ed.). Oxford: Blackwell Science Ltd, Blackwell Publishing.
- Stilwell, G. (2013). *Clínica de Bovinos*. Lisboa: Publicações Ciência e Vida, Lda.
- Stilwell, G., & Carvalho, R. C. (2011). Clinical outcome of calves with failure of passive transfer as diagnosed by a commercially available IgG quick test kit. *Canadian Veterinary Journal*, 52, 2–4.
- Swan, H., Godden, S., Bey, R., Wells, S., & Fetrow, J. (2007). Passive Transfer of Immunoglobulin G and Prewaning Health in Holstein Calves Fed a Commercial Colostrum Replacer. *Journal of Dairy Science*, 90(8), 3857–3866. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0152>
- Tizard, I. (2012). *Veterinary Immunology* (9th Editio). SAUNDERS Ltd.
- Trotz-Williams, L. A., Jarvie, B. D., Martin, S. W., Leslie, K. E., & Peregrine, A. S. (2005). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Canadian Veterinary Journal*, 46, 349–351.
- Tyler, J. W., Besser, T. E., Wilson, L., Hancock, D. D., Sanders, S., & Rea, D. E. (1996). Evaluation of a Whole Blood Glutaraldehyde Coagulation Test for the Detection of Failure of Passive Transfer in Calves. *Journal of Veterinary Intern Medicine*, 10, 82–84.
- Ussman, A. R. N. (2011). *Medição de proteínas séricas e imunoglobulinas como indicador da transferência de imunidade passiva em vitelos*. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Waele, V. De, Speybroeck, N., Berkvens, D., Mulcahy, G., & Murphy, T. M. (2010). Control of cryptosporidiosis in neonatal calves: Use of halofuginone lactate in two different calf rearing systems. *Preventive Veterinary Medicine*, 96(3-4), 143–151. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.06.017>
- Wasmoen, T. I., Jayappa, H., Davis, R. G., & Peters, C. M. (2011). Methods of immunizing pregnant heifers at three months of gestation, 2(12).
- Watarai, S., Tana, & Koiwa, M., (2008). Feeding Activated Charcoal from Bark Containing Wood Vinagre Liquid (Nekka-Rich) Is Effective as Treatment for Cryptosporidiosis in Calves. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1458-1463.
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., Vanmetre, D. C., Hostetler, D. E., & Barrington, G. M. (2000). Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. *Journal of Veterinary Intern Medicine*, 14, 569–577.
- Windeyer, M. C., Leslie, K. E., Godden, S. M., Hodgins, D. C., Lissemore, K. D., & Leblanc,

S. J. (2014). Factors associated with morbidity , mortality , and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine*, 113, 231–240. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.019>

Wyatt, C. R., Riggs, M. W., & Fayer, R. (2010). Cryptosporidiosis in Neonatal Calves. *Veterinary Clinics of NA: Food Animal Practice*, 26(1), 89–103. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.001>

Yilmaz, H., Turan, N., Altan, E., Bostan, K., Yilmaz, A., Helps, C. R., & Cho, K. O. (2011). First report on the phylogeny of bovine norovirus in Turkey. *Arch Vrol*, 156, 143–147. <http://doi.org/10.1007/s00705-010-0833-7>

20. Anexos

Anexo A: RCM Lactovac C[®]

1. NOME DO MEDICAMENTO VETERINÁRIO

Lactovac C suspensão injectável para bovinos

2. COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA

Cada dose de 5 ml contém:

Substância(s) activa(s):

Rotavírus bovino, inactivado, estirpe 1005/78 mín. 107,4 TCID₅₀^{*}, induzindo ≥ 1 UPR^{***}

Rotavírus bovino, inactivado, estirpe Holanda mín. 107,0 TCID₅₀^{*}, induzindo ≥ 1 UPR^{***}

Coronavírus bovino, inactivado, estirpe 800 mín. 105,8 TCID₅₀^{*}, induzindo ≥ 1 UPR^{***}

Antigénio *E. coli* inactivado K99/F41 mín. 250 UH^{**}, induzindo ≥ 1 UPR^{***}

Adjuvantes:

Hidróxido de alumínio 60 mg

Saponina (Quil A) 1 mg

Excipientes:

Tiomersal 0,05 mg

Para a lista completa de excipientes, ver secção 6.1.

* Dose infecciosa 50 % - cultura de tecidos

** Unidades Hemaglutinantes

*** Unidades de potência relativa

3. FORMA FARMACÊUTICA

Suspensão injectável rosa pálido a vermelho que sedimenta durante o armazenamento.

4. INFORMAÇÕES CLÍNICAS

4.1 Espécie(s)-alvo

Bovinos (vacas em avançado estado de gestação).

4.2 Indicações de utilização, especificando as espécies-alvo

Imunidade activa das vacas em avançado estado de gestação a fim de conferir imunidade passiva aos recém-nascidos (via colostro) para reduzir a gravidade e a duração de diarreias neonatais causadas por rotavírus, coronavírus e infecções por *E. coli*.

A protecção só está activa enquanto os recém-nascidos são alimentados por colostro de vacas vacinadas.

4.3 Contra-indicações

Não usar em animais que tenham doenças intercorrentes ou em mau estado geral.

4.4 Advertências especiais para cada espécie -alvo

Não existem.

4.5 Precauções especiais de utilização

Precauções especiais para utilização em animais

Vacinar só animais imuno-competentes.

Precauções especiais que devem ser tomadas pela pessoa que administra o medicamento aos animais

Em caso de auto-injecção acidental, dirija-se imediatamente a um médico e mostre-lhe o folheto informativo ou o rótulo. Pessoas que tenham hipersensibilidade a algum dos componentes do produto, devem administrar o medicamento imunológico com precaução.

4.6 Reacções adversas (frequência e gravidade)

Pode ocorrer uma tumefacção no local da injecção (desde nódulos com aproximadamente 1 cm de diâmetro até 20 cm de diâmetro, em casos extremos). Normalmente estas tumefacções desaparecem ou reduzem significativamente em 2-4 semanas após vacinação, apesar de em alguns animais a tumefacção possa permanecer por mais tempo.

Por vezes, podem ocorrer reacções febris com diminuição da temperatura corporal pouco significativas, que desaparecem passado um dia.

4.7 Utilização durante a gestação e a lactação

A vacina pode ser usada durante a gestação.

4.8 Interações medicamentosas e outras formas de interacção

Não existe informação sobre a segurança e a eficácia desta vacina quando utilizada com qualquer outro medicamento veterinário. A decisão da administração desta vacina antes ou depois de outro qualquer medicamento veterinário deve ser feita caso a caso.

4.9 Posologia e via de administração

Dose de imunização:

5 ml

Via de administração:

Injecção subcutânea na tábua do pescoço.

Imunização básica:

Devem ser administradas duas injecções de 5 ml a todas as vacas da exploração na fase final da gestação, com intervalo de 4-5 semanas e 2-3 semanas antes da altura prevista do parto.

Revacinação:

Em gestações subsequentes, os animais vacinados conforme referido na vacinação básica, só necessitam de uma única aplicação de 5 ml, 2 a 6 semanas antes da data prevista do parto.

Imunidade passiva dos vitelos

De maneira a obter uma boa imunização passiva local no intestino contra a diarreia neonatal, os recém-nascidos devem receber colostro e leite de qualidade das suas progenitoras vacinadas durante os primeiros 10 a 14 dias de vida. Para vitelos provenientes de vacas de carne, os vitelos devem ser amamentados directamente pela mãe. Vitelos provenientes de vacas leiteiras, geralmente não recebem colostro suficiente através da amamentação natural, por conseguinte devem ser amamentados artificialmente com colostro (ex.: por via esofágica com tubo de alimentação).

Alimentação e armazenamento do colostro

Para uma protecção máxima, foi demonstrado que os vitelos devem receber colostro diariamente durante as duas primeiras semanas de vida. Todos os vitelos devem receber o colostro retirado da primeira ordenha, idealmente durante as 6 primeiras horas de vida. Posteriormente os vitelos devem ser amamentados pela mãe no mínimo durante 2 semanas ou deve-se estabelecer um regime de administração de colostro. Quaisquer quantidades remanescentes da primeira ordenha e todo o colostro da segunda ordenha deve ser agrupado e armazenado congelado (-20°C durante no máximo um ano). Em alternativa, este colostro pode ser armazenado a +4°C durante 2 semanas. Durante as primeiras 2 semanas de vida os vitelos devem receber por dia um suplemento alimentar de 500 ml de colostro armazenado.

4.10 Sobredosagem (sintomas, procedimentos de emergência, antídotos), (se necessário)

As sobredosagens acidentais não causam nenhuma reacções além das descritas na secção 4.6

4.11 Intervalo(s) de segurança

Zero dias.

5. PROPRIEDADES IMUNOLÓGICAS

Para estimular a imunização activa em fêmeas gestantes e novilhas de forma a providenciar imunidade passiva via colostro e leite aos vitelos contra rotavírus, coronavírus e *E. coli*

Grupo farmacoterapêutico: Imunológicos para bovinos, Código ATCvet: QI02AL01

6. INFORMAÇÕES FARMACÉUTICAS

6.1 Lista de excipientes

Tiomersal

Água para injeção

6.2 Incompatibilidades

Não misturar com qualquer outra vacina ou medicamento veterinário imunológico.

6.3 Prazo de validade

Prazo de validade do medicamento veterinário tal como embalado para venda: 2 anos

Prazo de validade após a primeira abertura do frasco: 10 horas

6.4 Precauções especiais de conservação

Conservar no frigorífico (2°C - 8°C).

Não congelar.

6.5 Natureza e composição do acondicionamento primário

Embalagens com 1 frasco de vidro Tipo I de 25 ml fechadas com tampa de borracha tipo I seladas com cápsula e dobra de alumínio.

Embalagens com 10 frasco de vidro Tipo I de 5 ml fechadas com tampa de borracha tipo I seladas com cápsula e dobra de alumínio.

É possível que não sejam comercializadas todas as apresentações.

6.6 Precauções especiais para a eliminação de medicamentos veterinários não utilizados ou de resíduos derivados da utilização desses medicamentos

O medicamento veterinário não utilizado ou os seus resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos nacionais.

7. TITULAR DA AUTORIZAÇÃO DE INTRODUÇÃO NO MERCADO

Zoetis Portugal, Lda.

Lagoas Park, Edifício 10

2740-271 Porto Salvo

8. NÚMERO(S) DA AUTORIZAÇÃO DE INTRODUÇÃO NO MERCADO

586/97 DGV

9. DATA DA PRIMEIRA AUTORIZAÇÃO/RENOVAÇÃO DA AUTORIZAÇÃO

27 Outubro 2009

10. DATA DA REVISÃO DO TEXTO

02/201

Anexo B: Protocolo Rainbow Calf Scour 4



1. Recolher fezes directamente do recto do vitelo.



2. Se as fezes são sólidas elimine o excesso usando a espátula.



3. Eliminar o excesso até obter uma colher cheia.



4. Diluir as fezes no líquido do tubo denominado “*sample tube*” (tubo de amostra).



5. Agitar o tubo para homogeneizar.



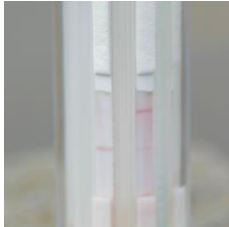
6. Golpear o tubo de amostra numa superfície dura de modo a que todo o líquido fique no fundo do tubo.



7. Introduzir o tubo de amostra dentro do tubo de tiras



8. Enroscar a tampa do tubo de tiras.



9. Deve ouvir dois clicks separados que correspondem à perfuração dos septos superior e inferior do tubo de amostra. Deixar o dispositivo sobre uma superfície horizontal e esperar 10 minutos.



10. Em algumas ocasiões, especialmente quando a amostra não está homogeneizada, a migração, nas tiras, pode parar. Nesse caso golpear o fundo do tubo com as tiras sobre uma superfície dura para fazer recomeçar a migração.



11. Após 10 minutos os resultados são lidos.

A tira vermelha é para Rotavirus.

A tira amarela é para Coronavirus.

A tira azul é para o factor de adesão F5 de *E. coli* K99.

A tira verde é para *Cryptosporidium parvum*

Anexo C: Tabelas de dados**G₁**

Nº Casota	Nascimento	Qualidade Colostro	PT	Diagnóstico	Cura
27C	04-11-2015	1,050	6,5	10-11-2015	Curado
32C	09-11-2015	1,050	6,5	16-11-2015	Curado
34C	09-11-2015	1,050	6	16-11-2015	Curado
38C	12-11-2015	1,055	5,5	17-11-2015	Curado
39C	12-11-2015	1,050	6	18-11-2015	Curado
40C	12-11-2015	1,050	5,5	18-11-2015	Curado
43C	17-11-2015	1,050	5,5	20-11-2015	Curado
47C	25-11-2015	1,050	7	-	-
48C	25-11-2015	1,060	6	30-11-2015	Curado
1E	25-11-2015	1,055	5,5	29-11-2015	Curado
5E	26-11-2015	1,050	5,5	02-12-2015	Curado
28A	12-02-2016	1,055	6	19-02-2016	Curado
1B	12-02-2016	1,050	5,5	19-02-2016	Curado
2B	12-02-2016	1,060	6	-	-

G₂

Nº Casota	Nascimento	Qualidade Colostro	PT	Diagnóstico	Cura
4E	26-11-2015	1,050	5,5	05-12-2015	Curado
6E	17-11-2015	1,050	5,5	11-12-2015	Curado
9E	03-12-2015	1,055	6	14-12-2015	Curado
10A	22-01-2016	1,060	5,5	-	-
9A	22-01-2016	1,050	5,5	01-02-2016	Curado
8A	18-01-2016	1,050	5,5	29-01-2016	Curado
22A	01-02-2016	1,050	5,5	11-02-2016	Curado
3B	15-02-2016	1,055	5,5	-	-
4B	16-02-2016	1,055	6	24-02-2016	Curado
9B	17-02-2016	1,055	5,5	25-02-2016	Curado

G₃

Nº Casota	Nascimento	Qualidade colostro	PT	Diagnóstico	Cura
27E	22-12-2015	1,050	5,5	-	-
29E	23-12-2015	1,055	5,5	03-01-2016 (Crypto)	Curado
31E	23-12-2015	1,055	5,5	-	-
22D	07-01-2016	1,060	6	-	-
23D	07-01-2016	1,060	6,5	-	-
24D	08-01-2016	1,060	5,5	-	-
26D	11-01-2016	1,050	5,5	21-01-2016 (Crypto)	Curado
1A	15-01-2016	1,055	5,5	-	-
2A	15-01-2016	1,055	5,5	22-1-2016 (Crypto)	Curado
12B	19-01-2016	1,050	6	-	-
15B	23-02-2016	1,050	6	4-3-2016 (Crypto)	Curado
16B	23-02-2016	1,055	6,5	-	-
17B	24-02-2016	1,050	5,5	05-03-2016 (Crypto)	Curado
18B	25-02-2016	1,055	6	05-03-2016 (Crypto)	Curado

G₄

Nº Casota	Nascimento	Qualidade Colostro	PT	Diagnóstico	Cura
14E	13-12-2015	1,050	6	-	-
15E	13-12-2015	1,050	5,5	24-12-2015 (Crypto)	Curado
17E	14-12-2015	1,050	5,5	-	-
19E	15-12-2015	1,060	6,5	-	-
20E	15-12-2015	1,050	7	-	-
25E	21-12-2015	1,050	5,5	-	-
26E	21-12-2015	1,050	6	-	-
27D	11-01-2016	1,050	6	-	-
5B	17-02-2016	1,050	6	-	-
6B	17-02-2016	1,050	5,5	-	-
10B	18-02-2016	1,055	6	-	-