

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL
CAMPUS DESCALVADO**

AURÉLIO MARCOS DOS SANTOS MOITINHO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ANTIOXIDANTES NOS PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS DE BEZERRAS LACTENTES DA RAÇA HOLANDESA**

**EFFECTS OF ANTIOXIDANT SUPPLEMENTATION ON HEMATOLOGICAL
PARAMETERS IN DAIRY CALVES OF THE HOLSTEIN BREED**

Descalvado – SP

2024

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL

AURÉLIO MARCOS DOS SANTOS MOITINHO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ANTIOXIDANTES NOS PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS DE BEZERRAS LACTENTES DA RAÇA HOLANDESA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia
Orientadora

Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo
Coorientador

Descalvado –SP
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

M724e Moitinho, Aurélio Marcos dos Santos
Efeitos da suplementação com antioxidantes nos parâmetros hematológicos de bezerras lactentes da raça Holandesa / Aurélio Marcos dos Santos Moitinho. – Descalvado: Universidade Brasil, 2024.
57f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.
Orientadora: Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia.
Coorientador: Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo.

1. Eritrograma. 2. Hemograma. 3. Imunidade. 4. Leucograma.
I. Título.

CDD 636.2142



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

TERMO DE APROVAÇÃO

AURÉLIO MARCOS DOS SANTOS MOITINHO

**"RESPOSTAS DE BEZERRAS LACTENTES À SUPLEMENTAÇÃO DE
COMPLEXO DE ANTIOXIDANTES:HEMATOLOGIA"**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre no Programa de Mestrado em Produção Animal** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia (presidente-orientadora)

Dr. Wanderley José de Melo (UNIVERSIDADE BRASIL)

gov.br

Documento assinado digitalmente
FABIANO BENITEZ VENDRAME
Data: 06/09/2024 11:24:11-0300
Verifique em <https://validar.jc.gov.br>

Dr. Fabiano Benitez Vendrame

(Agência de Defesa Sanitária Agrossilvopastoril do Estado de Rondônia)

Descalvado/SP, 09 de setembro de 2024.
Presidente da Banca Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia

Houve alteração do Título: sim (X) não ():

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ANTIOXIDANTES NOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
DE BEZERRAS LACTENTES DA RAÇA HOLANDESA**



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.


A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: "RESPOSTAS DE BEZERRAS LACTENTES À SUPLEMENTAÇÃO DE COMPLEXO DE ANTIOXIDANTES:HEMATOLOGIA"

Houve alteração do Título: sim (X) não (X):
EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ANTIOXIDANTES NOS PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS DE BEZERRAS LACTENTES DA RAÇA HOLANDESA

Autores:

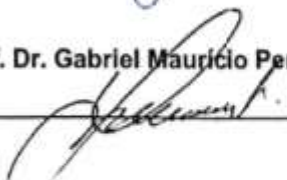
Discente: **Aurélio Marcos dos Santos Moitinho**

Assinatura: _____

Documento assinado digitalmente
AURELIO MARCOS DOS SANTOS MOITINHO
Data: 04/09/2024 12:58:11 -0100
Verifique em <https://validar.dl.gov.br>

Orientadora: **Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia**

Assinatura: _____


Coorientador: **Prof. Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo**

Assinatura: _____


Data: 04/09/2024

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, cuja presença e apoio foram fundamentais em cada etapa desta jornada. A minha esposa Muriely, por seu amor incondicional, sua paciência e encorajamento; aos meus filhos Heitor e Ana Clara, que, com suas lições e inspirações diárias, trouxeram um significado profundo ao meu esforço. À minha mãe Carmelina e à minha irmã Andréa, pelo suporte contínuo, mesmo à distância. E a todos os meus amigos e professores, cujo apoio e orientação foram fundamentais.

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste trabalho é fruto do esforço e apoio de muitas pessoas que contribuíram de maneira significativa para o meu percurso acadêmico e pessoal.

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder o dom da vida, a força e a perseverança necessárias para concluir este trabalho.

Também agradeço aos meus amigos Almir e Tony, cuja companhia e colaboração foram essenciais durante o mestrado, enriquecendo minha experiência acadêmica.

Agradeço à minha amiga Marcia, cuja ajuda foi crucial na elaboração desta dissertação. Seu apoio foi inestimável e muito apreciado.

Sou grato à minha mãe Carmelina e à minha irmã Andréa, que, mesmo à distância, sempre estiveram ao meu lado.

À minha esposa Muriely, sou profundamente grato por seu amor incondicional, força e incentivo. Sua compreensão e apoio foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Meu filho Heitor, com seu olhar único sobre o mundo, me ensinou muito sobre mim mesmo e me inspirou a seguir em frente com determinação e coragem.

À minha filha Ana Clara, com sua curiosidade e inteligência, agradeço por ser uma fonte constante de motivação e estímulo.

Agradeço ao Sr. Luis Fernando Vieira, proprietário da propriedade rural onde o estudo foi conduzido. Sua generosidade em disponibilizar os animais e o apoio prestado foram fundamentais para o desenvolvimento e sucesso desta pesquisa.

Finalmente, expresso minha gratidão aos professores Liandra e Gabriel, por seu apoio acadêmico e orientação valiosa, que foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

EPÍGRAFE

"A diferença é o que nos torna únicos e valiosos. Aceite sua singularidade e faça dela sua força."

Temple Grandin

RESUMO

O crescimento de bezerras é marcado por diversos desafios, como estresse ambiental, sanitário e nutricional, que as expõem ao estresse oxidativo e aumentam a suscetibilidade a doenças. Garantir condições sanitárias e nutricionais adequadas é crucial para que as bezerras superem esses desafios, desenvolvam boa saúde e se tornem animais produtivos e longevos. Nesse contexto, a suplementação antioxidante surge como uma estratégia promissora para promover a saúde e o bem-estar das bezerras. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação com antioxidante sobre a resposta hematológica de bezerras lactentes da raça Holandesa. Trinta bezerras lactantes foram divididas aleatoriamente em dois grupos: grupo suplementado (bezerras receberam suplementação oral semanal com formulação à base de antioxidantes) e grupo placebo (bezerras receberam suplementação oral semanal com a mesma base da formulação do grupo suplementado, porém sem os componentes antioxidantes). O experimento teve duração de 63 dias, com suplementação semanal. Amostras de sangue foram coletadas a cada 21 dias durante o experimento para análise do hemograma completo. A suplementação oral com antioxidantes apresentou resultados significativos na modulação dos parâmetros hematológicos. Observou-se aumento nos valores de hematócrito, eritrócitos e hemoglobina em animais suplementados em comparação ao grupo placebo. Além disso, a suplementação elevou significativamente os leucócitos, especialmente linfócitos, indicando uma melhora na resposta imunológica inata. Estes achados sugerem que a suplementação com antioxidantes pode ser uma estratégia eficaz para melhorar a saúde hematológica e imunológica das bezerras.

Palavras-chave: Eritrograma. Hemograma. Imunidade. Leucograma.

ABSTRACT

Calf growth is challenged by environmental, sanitary, and nutritional stress, which exposes calves to oxidative stress and increases their susceptibility to diseases. Ensuring adequate sanitary and nutritional conditions is crucial for calves to overcome these challenges, develop good health, and become productive and long-lived animals. In this context, antioxidant supplementation emerges as a promising strategy to promote calf health and well-being. This study aimed to evaluate the effect of antioxidant supplementation on the hematological response of lactating Holstein female calves. Thirty calves were randomly divided into two groups: a supplemented group (received weekly oral supplementation with an antioxidant-based formulation) and a control group (received weekly oral supplementation with the same base formulation but without antioxidants). The experiment lasted 63 days with weekly supplementation. Blood samples were collected every 21 days during the experiment for complete blood count analysis. Oral supplementation with antioxidants demonstrated significant results in modulating hematological parameters. An increase in hematocrit, erythrocytes and hemoglobin compared to the control group. Furthermore, supplementation significantly increased leukocytes, especially lymphocytes, indicating improvement in the innate immune response. These findings suggest that antioxidant supplementation may be an effective strategy for improving hematological and immunological health in calves.

Key-words: Erythrogram. Blood count. Immunity. Leukogram.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

O crescimento das bezerras, especialmente nos primeiros meses de vida, enfrenta vários desafios, como mudanças bruscas de temperatura, exposição a doenças e alimentação inadequada. Esses fatores podem causar estresse nas bezerras, deixando-as mais suscetíveis a doenças e impactando seu desenvolvimento. Para garantir que as bezerras cresçam saudáveis e se tornem vacas produtivas, é essencial oferecer boas condições de higiene, alimentação balanceada e, agora, como sugere o estudo, suplementação com antioxidantes. Antioxidantes são substâncias que ajudam a proteger as células do corpo contra danos causados pelo estresse oxidativo. O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres (moléculas instáveis que podem danificar células) e a capacidade do organismo de neutralizá-los. Bezerras em crescimento, especialmente em ambientes desafiadores, são mais propensas a sofrer esse tipo de estresse. No estudo, 30 bezerras da raça Holandesa foram divididas em dois grupos. Um grupo recebeu semanalmente uma suplementação à base de antioxidantes, enquanto o outro grupo recebeu um suplemento sem antioxidantes (grupo placebo). Os resultados mostraram que as bezerras que receberam a suplementação com antioxidantes tiveram uma melhora significativa na saúde, que foi demonstrado pelo hemograma. Elas apresentaram aumentos nos níveis de hematócrito, eritrócitos e hemoglobina – todos indicadores de boa saúde do sangue e oxigenação dos tecidos. Além disso, houve um aumento nos leucócitos, especialmente nos linfócitos, células importantes para a defesa contra infecções. Esse estudo sugere que a suplementação com antioxidantes pode ser uma estratégia eficiente para melhorar a saúde e o bem-estar das bezerras. Ao reduzir o estresse oxidativo, as bezerras ficam menos suscetíveis a doenças, crescem de forma mais saudável e têm maior potencial de se tornarem vacas produtivas e longevas.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 DESENVOLVIMENTO DE BEZERROS LEITEIROS, HEMATOLOGIA E AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES	17
3.1.1 Desenvolvimento de bezerros leiteiros e hematologia	17
3.1.2 Estresse oxidativo e radicais livres	21
3.1.3 Causas e efeitos do estresse oxidativo em bezerros leiteiros	22
3.2 PRINCIPAIS ANTIOXIDANTES E FORMAS DE ADMINISTRAÇÃO PARA BEZERROS	25
3.2.1. Vitaminas	25
3.2.2. Minerais	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO	31
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	31
4.3 PERÍODO EXPERIMENTAL	31
4.4 ANIMAIS EXPERIMENTAIS E MANEJO	32
4.5 COLETA E ANÁLISE DE SANGUE DOS ANIMAIS	33
4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1. ERITROGRAMA	35
5.1.1. Hematócrito	35
5.1.2. Eritrócitos	36
5.1.3. Hemoglobina	37
5.2. ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS	39
5.3. LEUCOGRAMA	41
5.3.1. Leucócitos	41
5.3.2. Neutrófilos segmentados	42
5.3.3. Linfócitos	43
5.3.4. Monócitos	44
5.3.5. Eosinófilos	45
5.3.6. Basófilos	46
5.4. PLAQUETAS	46

6 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura de leite tem passado por grandes evoluções no Brasil, com melhorias na nutrição, reprodução, manejo, melhoramento genético e instalações, proporcionando melhora nos índices de produção. Porém, para a fase inicial de criação de bezerros leiteiros, a adoção de técnicas ou manejos compreendidos nestes avanços estão aquém do necessário, o que leva ao notório quadro de casos de septicemia, diarreia, pneumonia e tristeza parasitária, com altas taxas de mortalidade (Coelho, 2009).

A cadeia produtiva do leite e derivados é um setor de grande importância econômica e social para o Brasil, que é o terceiro maior produtor mundial de leite, com mais de 34 bilhões de litros por ano. Esta produção ocorre em 98% dos municípios brasileiros, tendo a predominância de pequenas e médias propriedades, empregando perto de 4 milhões de pessoas (MAPA, 2024).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2022, o Brasil produziu 34.609.218 Mil litros de leite, sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor de leite: 9.362.690 Mil litros. O estado de São Paulo produziu 1.514.425 Mil litros (IBGE, 2022).

O país conta com mais de 1 milhão de propriedades produtoras de leite e as projeções do agronegócio da Secretaria de Política Agrícola, estimam que, em 2030, irão permanecer somente os produtores mais eficientes, que se adaptarem à nova realidade de adoção de tecnologia, melhorias na gestão e maior eficiência técnica e econômica (MAPA, 2024).

Nesse sentido, a cadeia do leite é uma vertente do agronegócio de grande expressão nacional e, pesquisas no setor são bem-vindas para assegurar que a produtividade dos animais seja melhorada.

Silva e Leão (2014) citam que a reposição do rebanho leiteiro é atividade fundamental para a manutenção e aperfeiçoamento da cadeia de produção do leite, tendo em vista que animais jovens irão substituir vacas que já apresentam índices de produção inviáveis.

Para o melhoramento do rebanho é necessário que animais saudáveis, bem nutridos e com genética aprimorada sejam inseridos em tempo adequado para suprir a carga produtiva. A partir disso, denota-se a necessidade de manter a criação de bezerras em bom estado. Para isso, o monitoramento do animal é uma ferramenta

utilizada para avaliar o sucesso da criação, pois pode indicar falhas de manejo (Pereira et al., 2010).

Neste sentido, o estresse oxidativo que é um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de Oxigênio ROS e a capacidade antioxidante do organismo, pode afetar diversos aspectos da saúde dos bezerros, incluindo parâmetros hematológicos.

A suplementação com antioxidantes, tem sido estudada como uma estratégia para diminuir os efeitos do estresse oxidativo e melhorar a resposta imunológica dos animais. Portanto, investigar a suplementação com complexos antioxidantes em bezerras lactentes pode otimizar a saúde e o desempenho produtivo na fase inicial da vida, contribuindo para a eficiência e sustentabilidade da cadeia produtiva do leite.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o impacto da suplementação de complexo de antioxidantes sobre a resposta hematológica de bezerras lactentes da raça Holandesa.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal foi avaliar possíveis alterações no hemograma de bezerras lactentes leiteiras da raça Holandesa, suplementadas com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (pasta), administrada por via oral.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Especificadamente, o objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação de bezerras leiteiras da raça Holandesa com antioxidantes sobre o eritrograma, leucograma e índices hematimétricos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 DESENVOLVIMENTO DE BEZERROS LEITEIROS, HEMATOLOGIA E AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES

3.1.1 Desenvolvimento de bezerros leiteiros e hematologia

Após o nascimento, os bezerros recém-nascidos vivenciam diversas mudanças fisiológicas para se adaptarem ao meio extrauterino. A ruptura do cordão umbilical os força a iniciar atos essenciais para a sobrevivência, como a respiração, o controle acidobásico do organismo e o catabolismo de carboidratos, gorduras e aminoácidos para produção de energia e regulação da temperatura corporal (Quigley; Drewry, 1998).

Logo após o rompimento do cordão umbilical, o sistema simpático adrenal é desencadeado, levando ao aumento da frequência cardíaca e respiratória, da capacidade pulmonar funcional, da produção de surfactantes e da diminuição da produção de fluido pulmonar durante a primeira hora de vida (Aurich et al., 1993).

A passagem pelo canal do parto também desencadeia mecanismos importantes para a adequação pulmonar do neonato. As adaptações cardiopulmonares extrauterinas são cruciais para a sobrevivência do animal nos primeiros dias de vida. Na distocia prolongada, podem ocorrer acidose, hipercapnemia e depressão do sistema nervoso (Nagy, 2009).

Embora essas adaptações sejam fisiológicas e discretas na maioria dos recém-nascidos, diversos fatores, como partos distócicos, podem acentuá-las, comprometendo a sobrevivência até os 120 dias de vida e aumentando as chances de diarreia neonatal e pneumonia em animais com baixa vitalidade no pós-parto (Tomlinson et al., 2011).

Hematologia

De acordo com Wolfe et al. (2023), os indicadores hematológicos variam de acordo com a idade dos bezerros e, por isso, sua associação com a produtividade e a saúde dos bezerros deve ser levada em consideração. Segundo os autores, durante o desmame justifica-se uma exploração mais aprofundada dos marcadores

hematológicos que podem aparecer, devido ao estresse do desmame, antes da morbidade ou mortalidade clínica.

De acordo com Roland et al. (2014), a análise hematológica, que inclui a contagem completa de células sanguíneas (CCS), vai além do diagnóstico de problemas no sangue, sendo também uma ferramenta valiosa para o diagnóstico de diversas doenças orgânicas e sistêmicas. Embora o CCS raramente seja suficiente para o diagnóstico definitivo de uma doença, fornece informações cruciais para o processo diagnóstico, acompanhamento do paciente e para a previsão da evolução da doença em cada indivíduo.

Intervalos de referência confiáveis, tanto bioquímicos como hematológicos, abrangentes e específicos para a idade são necessários tanto para a prática clínica veterinária quanto para informar pesquisas sobre saúde e bem-estar de bezerros (Roadknight et al., 2021). Para os mesmos pesquisadores, há uma necessidade de pesquisas mais abrangentes que estabeleçam intervalos de referência precisos para hematologia e bioquímica em bezerros jovens, utilizando amostras maiores e controlando variáveis como jejum. Isso permitirá uma melhor avaliação da saúde e bem-estar dos bezerros e o diagnóstico precoce de doenças. Na Tabela 1 podem ser observados intervalos para parâmetros hematológicos sugeridos como valores de referência.

Tabela 1. Valores de referência em hematologia para bezerros australianos de 5 a 12 dias de idade, segundo estudo com 135 bezerros (n)

Variável	Unidades	Média	Desvio Padrão	LRL (IC 90%)	URL (IC 90%)
WBC	$\times 10^9/L$	9,60	2,9	4,8 (4,0-5,2)	16,3 (14,2-21,2)
RBC	$\times 10^{12}/L$	9,00	1,2	6,2 (5,2-7,3)	11,9 (10,9-12,3)
Hemoglobina	g/L	114	17	73 (64-84)	148 (139-151)
Hematócrito	L/L	0,35	0,05	0,23 (0,19-0,26)	0,45 (0,42-0,47)
MCV	fL	38,40	2,7	33,1 (26,5-34,5)	44,2 (42,8, 44,5)
MCH	Pg	13	1	11 (9-12)	14 (14-15)
MCHC	g/L	328	9	309 (297-312)	346 (343-348)
Reticulócitos	$\times 10^9/L$	10	13	-	-
RCDW-SD	fL	36,10	3,3	31,2 (26,8-32,4)	41,6 (40,2-60,2)
RCDW-CV	%	29,40	2,8	25,5 (23,9-25,9)	34,1 (32,9-49,7)
Platelets	$\times 10^9/L$	752	238	238 (161-308)	1213 (1159-1313)

<i>Continuação</i>					
PDW	fL	7,9	0,7	6,7 (6,3-7,0)	9,6 (9,0-10,4)
MPV	fL	6,5	0,3	6,0 (5,7-6,0)	7,3 (7,0-7,4)
PLCR	%	4,9	1,9	1,7 (1,5-2,1)	10,0 (7,8-10,7)
Neutrófilos	×10 ⁹ /L	4,6	2,9	0,9 (0,6-1,3)	13,0 (9,2-20,7)
Linfócitos	×10 ⁹ /L	4,3	1,9	0,1 (0,1-0,1)	8,4 (7,1-10,3)
Monócitos	×10 ⁹ /L	0,6	0,5		1,7 (1,4-2,3)
Eosinófilo	×10 ⁹ /L	0,1	0,1		0,4 (0,2-0,5)
Basófilos	×10 ⁹ /L	0,1	0,1		0,3 (0,2-0,4)

Abreviaturas: CI, intervalo de confiança; LRL, limite de referência inferior; Máximo, máximo; MCH, hemoglobina corpuscular média; MCHC, concentração média de hemoglobulina; MCV, volume corpúsculo médio; Min, mínimo; MPV, volume médio plaquetário; PDW, largura de distribuição plaquetária; PLCR, relação de células maiores plaquetárias; RBC, glóbulos vermelhos; RCDW-CV, coeficiente de variação da largura da distribuição de glóbulo vermelho; RCDW-SD, largura de distribuição de células vermelhas desvio padrão; SD, desvio padrão; URL, limite de referência superior; WBC, glóbulos brancos. As raças de bezerros foram relatadas como Holstein-Friesian (n = 63), cruzamento Holstein - Fries/Jersey (n= 42), cruzamento holstein-fries/ Jersey/Australian Red (n = 34), Jersey (n = 1), e cruzamento leiteiro (n = 1).

Fonte: Adaptado de Roadknight et al. (2021).

Brun-Hansen et al. (2008) conduziram medidas sequenciais de hemograma desde o nascimento até os 6 meses de idade em 15 bezerros saudáveis da raça Norwegian Vermelha pois intervalos de referência específicos por idade são necessários para contagem de hemácias, volume corpúsculo médio, concentração média de hemoglobina, largura de distribuição de glóbulos vermelhos e contagens de plaquetas e linfócitos em bezerros (Quadro 1). O estudo fornece informações sobre os intervalos de referência hematológicos em bezerros em crescimento, sendo que esses valores podem auxiliar no diagnóstico precoce de doenças hematológicas em bezerros.

É consenso que no primeiro mês de vida os bezerros vivenciam uma mudança gradual na contagem de leucócitos, células brancas do sangue responsáveis pela defesa contra patógenos. Inicialmente, observa-se uma redução no número total de leucócitos, incluindo neutrófilos (células que combatem infecções agudas) e linfócitos (células que atuam na defesa imune a longo prazo). Essa queda pode ser atribuída à adaptação do sistema imune ao novo ambiente extrauterino. A partir do segundo mês de vida, ocorre um aumento gradativo na contagem de leucócitos, indicando o amadurecimento do sistema imune e a sua capacidade crescente de combater infecções (Mohri et al., 2007; Roland et al., 2014).

Quadro 1. Evolução e comparação dos parâmetros hematológicos em bezerros da Raça Norwegian Vermelha, em relação aos obtidos em animais adultos.

Parâmetro	Resultado
VCM	Menor em bezerros do que em adultos durante todo o estudo;
Contagem de glóbulos vermelhos	Maior em bezerros do que em adultos durante todo o estudo;
Concentração de hemoglobina	Em grande parte dentro do intervalo de referência para adultos;
MCHC	Inferior aos valores dos adultos durante as primeiras 5 semanas, depois aumentou e atingiu os valores dos adultos nas semanas 10-12;
Contagem de linfócitos	Atingiu valores de referência para adultos nas semanas 6 a 8;
Contagem de monócitos	Aumentou continuamente até as semanas 14 a 16;
Variação interindividual	Maior para a maioria dos leucócitos durante as primeiras 5 a 8 semanas de vida;
Contagem de plaquetas	Superior ao intervalo de referência para adultos até as semanas 19-21 de idade.

Fonte: Brun-Hansen et al. (2008)

Mohri et al., (2007) analisaram a composição sanguínea de bezerros Holstein ao longo dos primeiros três meses de vida; mostraram mudanças significativas na maioria dos parâmetros hematológicos e bioquímicos com a idade, exceto para neutrófilos em banda, monócitos, sódio, potássio, cloreto e BUN.

Em bezerros Hanwoo, foram observadas diferenças significativas em 14 parâmetros hematológicos ao longo das primeiras 28 semanas de vida. A necessidade de intervalos de referência específicos para bezerros foi destacada para um diagnóstico preciso de doenças (Kim et al., 2021).

Para determinar a anemia, a desidratação e os níveis potenciais de ferro, o hematócrito e a hemoglobina, por exemplo, podem ser usados com eficácia (Mohri et al., 2007). De acordo com Roland et al. (2014), linfócitos e neutrófilos são outros indicadores eficientes de estresse.

O hematócrito, a proporção entre o volume de glóbulos vermelhos e o volume total de sangue, de acordo com estudo de Wolf et al. (2023) não apresentou alterações significativas em bezerros desmamados gradualmente. Para os pesquisadores, a ausência de mudança nas contagens de glóbulos vermelhos sugere que a redução observada no hematócrito nos bezerros provavelmente se deve a um aumento do

volume total de sangue, e não a uma diminuição na quantidade de glóbulos vermelhos. Em outras palavras, o hematócrito mais baixo em bezerros desmamados gradualmente pode ser um indicador de melhor hidratação, mesmo que essa melhora não seja facilmente detectável através de métodos clínicos como o exame do olho e da gengiva.

De modo apropriado, deve-se adotar um intervalo de referência hematológica gerado a partir de um grupo de animais saudáveis, com características ambientais e fisiológicas tão semelhantes quanto possível ao paciente ou grupo de animais que estão sendo avaliados (Roland et al., 2014).

Os hemogramas completos são essenciais para monitorar a saúde dos bezerros, com variações significativas dependendo da idade, suplementação nutricional e condições de estresse. Estabelecer intervalos de referência específicos para bezerros é crucial para diagnósticos precisos e intervenções eficazes.

3.1.2 Estresse oxidativo e radicais livres

Os animais de criação, de modo geral, enfrentam diversas condições ambientais e restrições que desafiam sua fisiologia durante toda a vida produtiva. O estresse oxidativo, definido como um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade neutralizante do sistema antioxidante, emerge como uma questão importante para explicar a desadaptação e as disfunções que levam à sobrevivência prejudicada, ao mau desempenho da produção ou ao comprometimento da saúde e da imunidade (Al-Gubory et al., 2010).

As ROS incluem radicais livres, moléculas pequenas e difusíveis com um ou mais elétrons desemparelhados (peróxidos, superóxido, radical hidroxila) e moléculas não radicais (peróxido de hidrogênio, peroxinitrito, etc.), subprodutos do metabolismo do oxigênio nas células animais. As ROS possuem efeitos benéficos em muitos processos biológicos, como diferenciação celular, autorrenovação e homeostase (Ren et al., 2015), atuando como sinais dentro e entre as células para regular as expressões gênicas envolvidas no desenvolvimento e crescimento celular (Dalton et al., 2002).

No entanto, a produção exagerada e descontrolada de ROS induz danos às proteínas, lipídios e DNA, resultando na deterioração da estrutura e funções celulares,

podendo levar à morte celular. Macromoléculas danificadas e destruídas também podem desencadear respostas inflamatórias, alterando a saúde. Neste sentido, moléculas enzimáticas e não enzimáticas produzidas pelo animal (ácido úrico, glutathione GSH) ou trazidas pela dieta (vitaminas E e C, carotenóides, flavonóides, polifenóis, selênio, zinco) atuam como antioxidantes para prevenir ou reparar os danos oxidativos. (Sies; Jones, 2020).

3.1.3 Causas e efeitos do estresse oxidativo em bezerros leiteiros

O estresse oxidativo em bezerros leiteiros é causado por uma combinação de fatores metabólicos, ambientais, infecciosos e nutricionais. A compreensão desses fatores é importante para o desenvolvimento de estratégias de manejo e suplementação que possam mitigar os efeitos negativos do estresse oxidativo na saúde e no desenvolvimento dos bezerros (Spears; Weiss, 2008).

Problemas de saúde ocorrem quando os antioxidantes de defesa são insuficientes, levando ao acúmulo de radicais livres em excesso, destruindo macromoléculas como DNA, proteínas e lipídios que fazem parte do metabolismo (Sordillo, 2016).

Metabolismo, imunidade e saúde dos bezerros leiteiros

O estresse oxidativo é um estado de desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade do organismo de desintoxicá-las, levando a danos celulares e inflamatórios. O estresse oxidativo reduz a capacidade das células imunes, como os linfócitos, de responder adequadamente a infecções. Bezerros expostos a altos níveis de estresse oxidativo mostraram menor ativação de linfócitos e produção de anticorpos, além de uma menor expressão de citocinas importantes para a resposta imune (Cuervo et al., 2021)

Este fenômeno pode ter impactos significativos na saúde dos bezerros leiteiros, especialmente durante os primeiros meses de vida, afetar significativamente sua saúde, crescimento e resposta imune. Em bezerros recém-nascidos, o estresse oxidativo pode levar a uma resposta inflamatória exagerada e menor ganho de peso, prejudicando o desenvolvimento saudável dos animais (Ling et al., 2018).

Com relação aos fatores metabólicos, o estresse metabólico em vacas no período periparto é caracterizado por mobilização excessiva de lipídios, inflamação e estresse oxidativo. Vacas com alto estresse metabólico e oxidativo durante a gestação apresentam respostas metabólicas e inflamatórias alteradas, incluindo maior concentração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, e inflamação aumentada. Esse estresse pode ser transmitido aos bezerros, afetando suas respostas metabólicas e imunológicas nas primeiras semanas de vida (Ling et al., 2018).

O ambiente e o estresse térmico são causas significativas de estresse oxidativo em bezerros leiteiros. A exposição a altas temperaturas, especialmente durante períodos críticos como a gestação tardia e o período neonatal, pode comprometer a imunidade, aumentar a suscetibilidade a doenças e afetar negativamente a produção e o desenvolvimento dos bezerros. Os bezerros são altamente suscetíveis aos efeitos negativos do estresse térmico, que pode causar hipóxia em órgãos devido à redistribuição sanguínea, danos à barreira intestinal e desencadear estresse oxidativo intestinal. A suplementação com glicirrizinato de monoamônio (MAG) melhora a capacidade antioxidante das células epiteliais intestinais de bezerros sob estresse térmico, reduzindo o estresse oxidativo intestinal e promovendo a atividade celular (Wang et al., 2023).

Estudos evidenciam que os bezerros expostos a temperaturas acima de 32,2°C mostraram respostas fisiológicas significativas, incluindo aumento na taxa de batimentos cardíacos, pressão arterial, cortisol plasmático e temperaturas interna e da pele. Esses resultados indicam uma resposta sistêmica ao estresse térmico agudo, que pode levar ao estresse oxidativo (Neuwirth et al., 1979).

O estresse térmico aumenta o risco de doenças respiratórias bovinas (BRD) em bezerros, especialmente durante os meses de verão. A associação entre temperatura, umidade e incidência de BRD sugere que o estresse térmico compromete a imunidade dos bezerros, aumentando sua suscetibilidade a infecções respiratórias (Louie et al., 2018). Segundo Joshi et al., (2018), a doença respiratória bovina (BRD) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em bezerros leiteiros. Infecções podem aumentar os níveis de peroxidação lipídica e reduzir as atividades de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPX).

Outro fator que causa o estresse oxidativo em bezerros é o estado nutricional. Bezerros anêmicos mostram um aumento significativo na concentração de malondialdeído (MDA) no hemolisado, indicando maior peroxidação lipídica, e uma diminuição no ferro sérico e na saturação de transferrina, correlacionando estresse oxidativo com anemia e danos às células vermelhas do sangue (Rajabian et al., 2017).

Estudos recentes indicam que a deficiência de selênio induz estresse oxidativo severo em bezerros, causando necrose no miocárdio, inflamação e apoptose. Bezerros com deficiência de selênio apresentam maiores níveis de ROS e danos celulares significativos (Lei et al., 2023).

Efeitos do estresse oxidativo sobre o hemograma e eritrograma de bezerros

O estresse oxidativo afeta o hemograma dos bezerros, aumentando a peroxidação lipídica e alterando a atividade das enzimas antioxidantes. Suplementações nutricionais, como vitaminas e antioxidantes, podem ajudar a mitigar esses efeitos e melhorar a saúde hematológica dos bezerros.

Chirase et al., (2004) evidenciaram que o estresse que o animal sente no manejo do transporte aumenta significativamente a concentração de MDA no soro e diminui a capacidade antioxidante total (CAT) em bezerros, indicando que o transporte induz estresse oxidativo que pode ser detectado por alterações nos biomarcadores de sangue.

Alterações nos biomarcadores de sangue podem ser induzidas. Observou-se que a suplementação com vitamina E em bezerros desmamados reduz significativamente os biomarcadores de estresse oxidativo no soro, como os metabólitos reativos de oxigênio, e melhora os parâmetros hematológicos, como a contagem de hemácias e a concentração de hemoglobina (Otomaru et al., 2022).

Os efeitos do estresse podem ser observados sobre o eritrograma de bezerros. O estresse pode afetar diversos aspectos da saúde dos bezerros, incluindo parâmetros hematológicos. Estudos demonstram que diferentes tipos de estresse, como calor, frio, desmame e transporte, têm impactos significativos no eritrograma dos bezerros (Hickey et al., 2003; Bernardini et al., 2012).

De acordo com Tao et al., (2012), bezerros expostos ao estresse térmico apresentaram diminuição do hematócrito e concentração de proteínas plasmáticas em comparação com bezerros não estressados, indicando um efeito negativo no volume sanguíneo e na capacidade de transporte de oxigênio.

O estresse térmico também foi associado a uma diminuição no número de hemácias e no volume corpuscular médio, refletindo uma resposta inadequada de eritropoiese (Guo et al., 2016).

3.2 PRINCIPAIS ANTIOXIDANTES E FORMAS DE ADMINISTRAÇÃO PARA BEZERROS

3.2.1. Vitaminas

Vitamina E

Diversos antioxidantes, incluindo vitamina E, selênio, nucleotídeos, flavonoides, vitamina C e β -caroteno, são eficazes na melhoria da capacidade antioxidante e da saúde geral dos bezerros. A administração desses antioxidantes pode ser feita de forma oral ou intramuscular, dependendo do tipo de antioxidante e do objetivo do tratamento.

A Vitamina E é o nome genérico de todos os derivados de tocol e tocotrienol (Hurley; Doane, 1989) e atuam como antioxidantes lipossolúveis, protegendo as células da peroxidação lipídica causada por radicais livres (Omur et al., 2016).

É um constituinte importante de todas as membranas encontradas nas células: plasmática, mitocondrial e nuclear, sendo assim o principal antioxidante do corpo, presente em todas as células sendo que a maior concentração se dá nas células do sistema imunológico, onde pode fornecer proteção contra os radicais livres utilizados pelas células brancas do sangue para destruir organismos patogênicos (Hurley; Doane, 1989).

Segundo Barreiros (2006), a vitamina E age como antioxidante lipossolúvel dentro das membranas, atua como doador de H para o radical peroxila, interrompendo a reação em cadeia. A neutralização da peroxidação lipídica das membranas celulares forma um derivado de baixa reatividade, o que minimiza os danos para as membranas.

A associação da vitamina E e selênio melhora a atividade das enzimas antioxidantes, reduz a peroxidação lipídica e aumenta a capacidade antioxidante total em bezerros. Esses efeitos são benéficos para mitigar o estresse oxidativo e melhorar a saúde geral dos bezerros. A suplementação com vitamina E (300 IU) e selênio (0,3 mg) em bezerros mostrou aumento significativo na atividade da glutathione peroxidase (GSH-Px) nos eritrócitos e na concentração de selênio plasmático. A atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase (SOD) também foi afetada positivamente, embora sem significância estatística em alguns casos. A concentração de α -tocoferol no plasma aumentou significativamente nos grupos suplementados com vitamina E (Shinde et al., 2008).

A suplementação com vitamina E e selênio em bezerros mostrou aumento na atividade das enzimas antioxidantes, como a glutathione redutase, glutathione transferase, e glicose-6-fosfato desidrogenase, nos músculos. Estes resultados sugerem uma tentativa de mitigar os efeitos do estresse oxidativo em dietas deficientes em vitamina E e selênio (Walsh et al., 1993).

Segundo Volpato et al., 2018, a vitamina E está associada ao mineral Selênio, pois estes nutrientes apresentam sinergia no sistema de defesa antioxidante, agindo contra os peróxidos presentes no organismo e resultando na melhora do sistema imune, com respostas mais consistentes de anticorpos. A suplementação com vitamina E em bezerros alimentados com um sucedâneo lácteo aumentou a atividade bactericida do neutrófilo no sangue (Eicher et al., 1994).

Hurley & Doane, 1989 citam que a vitamina E e Selênio possuem funções específicas, no entanto, cada um pode exercer o efeito de reduzir a necessidade do outro nutriente, sendo os dois, componentes importantes do sistema antioxidante celular.

Vitamina C

A suplementação com vitamina C, outro importante antioxidante, melhora a capacidade antioxidante, reduz o estresse oxidativo e melhora a resposta imunológica, demonstrando ser uma estratégia eficaz para promover a saúde e o desenvolvimento dos bezerros. A suplementação com vitamina C (1.000 mg diários) em bezerros mostrou redução significativa nos biomarcadores de estresse oxidativo (d-ROMs e índice de estresse oxidativo) e aumento nos títulos de anticorpos após vacinação contra *Histophilus somni*. Este estudo demonstrou que a vitamina C pode

reduzir o estresse oxidativo e aumentar a produção de anticorpos em bezerros (Otomaru et al., 2020).

Em outro estudo, avaliou-se o leite suplementado com 250 ou 500mg de vitamina E; leite suplementado com 250 ou 1000mg de vitamina C e leite suplementado com 500 mg de vitamina E e 1000mg de vitamina C. A suplementação com vitamina C em combinação com vitamina E em bezerros mostrou aumento significativo na capacidade antioxidante total (CAT) e nas atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GSH-Px). Além disso, houve uma melhora na resposta imune com aumento nos níveis de imunoglobulinas (Naeem et al., 2023).

Vitamina A

A vitamina A sob a forma de retinol ou β -caroteno, tem importante função no sistema imunológico e antioxidante. É necessária em diversos processos do organismo, como crescimento, visão e proteção contra infecções (Krishnamoorthy, 2012), tendo papel importante tanto na resposta humoral (anticorpos) como na imunidade mediada por células (Maggini et al., 2008) e atua na neutralização do oxigênio atômico e outros elétrons excitados, além de reagir com radicais peroxil e alcoxi (Sies, 1991).

A deficiência da vitamina A prejudica a imunidade, reduzindo capacidade de defesa contra patógenos parasitários, bacterianos e virais, além de induzir a respostas inflamatórias (Maggini et al., 2008; Chew, 1987). A deficiência também causa cegueira ou cegueira noturna, retardo e cessação do crescimento em fetos e bezerros, além de alterações degenerativas na mucosa protetora do trato respiratório e digestivo. (Krishnamoorthy, 2012).

De acordo com Chandra, 1994, o papel da vitamina A na modulação do sistema imune durante uma infecção pode variar de acordo com os patógenos envolvidos e do *status* da vitamina no animal. Porém acredita-se que os danos causados nas membranas do trato respiratório e digestivo, favorecem a invasão de bactérias e vírus.

3.2.2. Minerais

Zinco

O Zn possui funções na produção de proteínas e formação de ligações dissulfeto, que estão presentes na estrutura dos anticorpos, logo o maior aporte de Zn pode auxiliar no aumento de anticorpos (Charlton; Ewing, 2007). No sistema antioxidante o Zn atua principalmente como cofator da enzima Cu-Zn SOD.

Também induz a síntese de metalotioneína, uma proteína ligante de metal que pode eliminar os radicais de hidróxido (OMUR et al., 2016). De acordo com Marklund (1980), o aumento da concentração de SOD pode acontecer pelo maior aporte de Zn, componente essencial da Zn-SOD.

O Zn participa também da pigmentação dos tecidos, manutenção da integridade das gônadas masculinas, pele, ossos e olhos. Influencia a imunidade inata e adquirida (Andriquetto et al., 1999; Maggini et al., 2008), sendo necessário para a adequação, formação e funcionamento do sistema imunológico na primeira fase da vida do animal (NRC, 2001).

O Zn também é componente da timosina, um hormônio produzido pelas células do timo que regula a imunidade mediada por células (NRC, 2001). Na reprodução, o Zn é essencial para a espermatogênese e motilidade dos espermatozoides, além de ser um componente essencial ou ativador de enzimas envolvidas na esteroidogênese (Hurley; Doane, 1989).

Deficiências de Zn podem apresentar efeitos significativos em múltiplos sistemas dentro do corpo, incluindo o crescimento, sistemas nervoso, reprodutivo e imunológico (Carroll; Forsberg, 2007). A deficiência de Zn em bovinos se manifesta pela diminuição da taxa de crescimento e da eficiência alimentar, redução do consumo de alimentos, queda de pelos, diminuição de fertilidade e da produção de leite (Andriquetto et al., 1999).

Em casos de deficiência prolongada, os animais exibem menor crescimento dos testículos, 28 cascos fracos, além de lesões na pele, especialmente na região das pernas, cabeça e pescoço e alopecia (NRC, 2001). A deficiência de Zn tem sido associada também com diminuição da função das células T e respostas de anticorpos (Kruse-Jarres, 1989) em ruminantes, porém alguns estudos sugerem que a deficiência marginal de Zn não prejudicaria as respostas imunes mediadas por células ou anticorpos (Spears, 2000).

Cobre

O micromineral cobre (Cu) exerce função no sistema imune por estimular as respostas de neutrófilos, monócitos e células T (Maggini et al., 2008), e sua deficiência

está associada com redução da resposta imune celular e humoral (Dorton et. al., 2003). O Cu também está ligado à maturação de hemácias, além de ter efeito sinérgico com o ferro na formação de hemoglobina (Fox, 2003).

Além disso, o Cu participa da formação do tecido ósseo, do tecido conjuntivo e é importante na integridade do sistema nervoso central (Spears, 2000). Já o sistema antioxidante, pode ser estimulado pelo maior aporte de Cu, pois este é um cofator da enzima catalase CAT, que tem a função de catalisar a redução do peróxido de hidrogênio para água e oxigênio (Underwood, 1999).

Também é componente da enzima SOD, sob as formas de Cu-ZnSOD (Marklund, 1980), enzima que converte os radicais superóxido em peróxido de hidrogênio no citosol (Underwood, 1999), um intermediário com capacidade oxidante fraca, porém que pode formar o radical hidroxila com a presença de metais como o ferro (Vasconcelos et. al., 2017).

Tomasi et al., (2018) verificaram aumento da enzima CAT e SOD, 10 dias após a aplicação injetável de Cu e Zn em bezerros. A aplicação de cobre em novilhas de búfalas aumentou a concentração de ceruloplasmina, atividade fagocítica dos neutrófilos e das enzimas SOD (Sharma et al., 2007).

Grande parte do Cu do plasma sanguíneo está na forma de ceruloplasmina, que é sua carreadora específica, ou seja, responsável pelo transporte do fígado para os demais órgãos (Mcdowell, 1992).

A ceruloplasmina é uma proteína responsável pela homeostase do ferro, pois converte a forma ferrosa em ferro férrico (Broderius et al., 2010). A ceruloplasmina também impede o cobre e o ferro de participar das reações oxidativas, agindo dessa forma no sistema de defesa antioxidante extracelular (Scheneider; Oliveira, 2004; Weiss, 2002).

Dessa forma, a deficiência de Cu pode causar anemia, visto a participação no metabolismo do ferro (Sharma et al., 2007). Deficiências de Cu em ruminantes são causadas normalmente pela ingestão via dieta de altas quantidades de minerais antagonistas, como o molibdênio, o enxofre e o ferro. Esta deficiência está relacionada com a depressão da capacidade dos neutrófilos de combater as infecções (Spears, 2000).

Selênio

O Se é componente essencial da família das enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase (GPx), responsáveis pela remoção dos radicais livres através da

destruição de peróxido de hidrogênio e de hidroperóxidos lipídicos (Omur et al., 2016; Overton; Yasui, 2014).

Combatendo o estresse oxidativo, o Se contribui para manter a integridade da membrana celular, proteger de danos à molécula de DNA e outras macromoléculas presentes na célula (Maggini et al., 2008). A presença de Se na estrutura da enzima GPx permite uma correlação entre a atividade desta enzima e concentração sanguínea do mineral (Wittwer, 1998), sendo que animais deficientes em Se apresentam menor atividade da enzima GPx quando comparados com animais não deficientes (Wu et al., 2016).

As alterações relatadas pela deficiência de Se também estão associadas a doença do músculo branco (que gera distrofia muscular e afeta principalmente bezerros (Van Saun, 1990), menor resistência a infecções (devido a menor produção de anticorpos (Sheffy; Schultz, 1979) e a redução da atividade dos neutrófilos (Hogan et al., 1993).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação e Uso Animal da Universidade Brasil, registrados sob o protocolo de aprovação nº 2200029 (ANEXO A).

4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi instalado e conduzido em propriedade rural privada, localizada no município de Descalvado, SP, com coordenadas geográficas 21°54'05.1"S 47°33'20.8" W. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Clínica do Hospital Veterinário Escola, Universidade Brasil, campus de Descalvado - SP.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

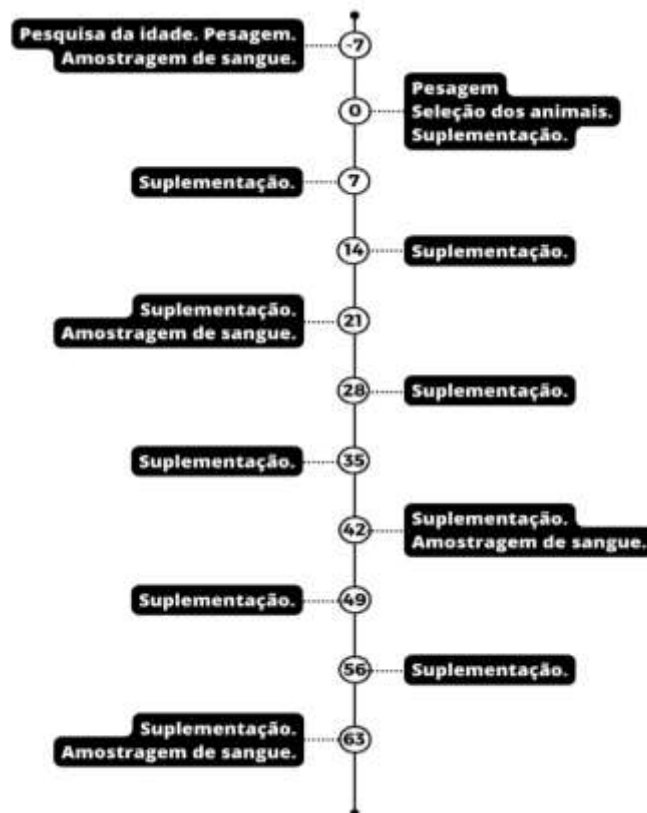
O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 15 repetições, tendo sido analisado como medidas repetidas no tempo. Os tratamentos avaliados foram: (SUPL) grupo tratado com a suplementação formulada à base de antioxidantes na forma farmacêutica semissólida oleosa (pasta) e ministrada oralmente, e (PLA) grupo controle que recebeu a pasta base sem inclusão de antioxidantes (placebo).

O tratamento com suplementação de antioxidantes foi caracterizado pela aplicação de pasta, via oral, em formulação desenvolvida pela empresa NewAgri®.

4.3 PERÍODO EXPERIMENTAL

O período experimental durou 63 dias, divididos em três intervalos de 21 dias cada, durante os quais foram realizadas as coletas de sangue. A suplementação foi administrada a cada 7 dias (Figura 1). Sete dias antes do início do período experimental, foram coletados dados sobre a data de nascimento, peso e parâmetros sanguíneos para a seleção de um grupo homogêneo.

Figura 1. Cronograma do período experimental.



Fonte: Autoria própria

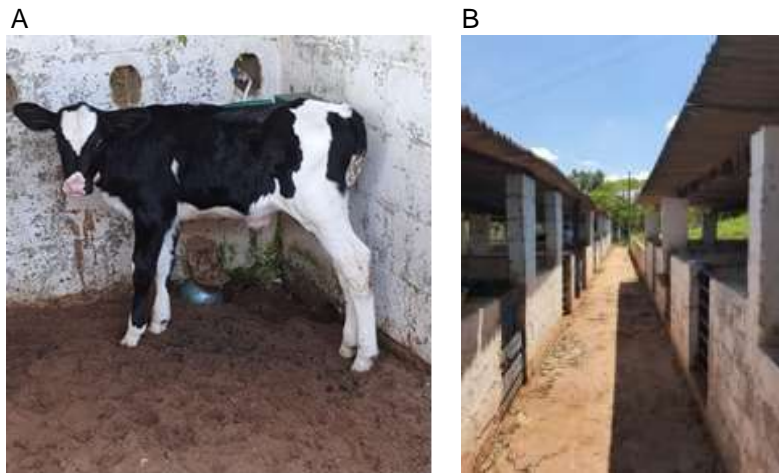
4.4 ANIMAIS EXPERIMENTAIS E MANEJO

Foram utilizadas 30 fêmeas lactentes da raça Holandesa, PO, malhada de preto, com peso vivo na faixa de 43-53 kg no início do experimento.

Diariamente, foram fornecidos 4 L de leite distribuídos no período da manhã e da tarde. A água ficou disponível “ad libitum” desde o nascimento, e o concentrado inicial peletizado (20% proteína, 2,5% de gordura, 7,5% fibra) foi fornecido a partir de 1 semana de idade, bem como o volumoso (feno de Tiffon picado) que foi oferecido “ad libitum”.

As bezerras foram mantidas confinadas em baia de alvenaria (blocos de concreto), com cobertura do telhado de material de fibrocimento. Nas laterais das baias, as paredes são de 1,5 m de altura, com vão até o pé direito (2,2 m) (Figura 2).

Figura 2 – Imagem da bezerra da raça Holandesa em baia individual (A) e das instalações do bezerreiro de alvenaria e telhado com cobertura de telhas de fibrocimento (B).



Fonte: autoria própria.

As aferições foram executadas pelo mesmo grupo de pessoas, visando à redução das interferências do pesquisador na observação dos parâmetros avaliados.

O peso dos animais foi avaliado no dia -7 e 0 do período experimental para auxiliar na seleção do grupo experimental. As pesagens foram realizadas sempre às 8:00 horas, sendo os animais submetidos ao jejum de sólidos por 6 horas. No processo de pesagem foi utilizada balança eletrônica digital com capacidade de carga máxima de 500 Kg e sensibilidade e reprodutibilidade de 100g com plataforma com bandeja de aço de carbono 100 x 100 cm. Os animais foram contidos, no momento da pesagem, em gaiola móvel, anexa à balança.

4.5 COLETA E ANÁLISE DE SANGUE DOS ANIMAIS

Amostras de sangue foram coletadas a cada 21 dias, 30 minutos antes da alimentação matinal (7h30min), por meio de venipuntura jugular usando agulhas de 18 G e tubos de coleta de sangue de 10 mL. Uma parte do sangue amostrado foi recolhido em frascos contendo anticoagulante EDTA-K3, sendo analisado em equipamento automático modelo Poch-100iVDiff, marca Sysmex. Nessa amostra de sangue, foi realizada a contagem diferencial de leucócitos, efetuada em esfregaços sanguíneos a partir do sangue in natura e corados pelo método pancromático de Rosenfeld e contagem em microscópico a luz (Jain et al., 1993). Em cada esfregaço sanguíneo, foram diferenciados 100 leucócitos e classificados de acordo com suas

características morfológicas e tintoriais, neutrófilos com núcleo segmentado, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos.

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados usando os testes de Shapiro–Wilk e Levene para confirmar a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias, respectivamente. A comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey (95%). Foi adotado o nível de significância de 5% de probabilidade de ocorrência do erro tipo I.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ERITROGRAMA

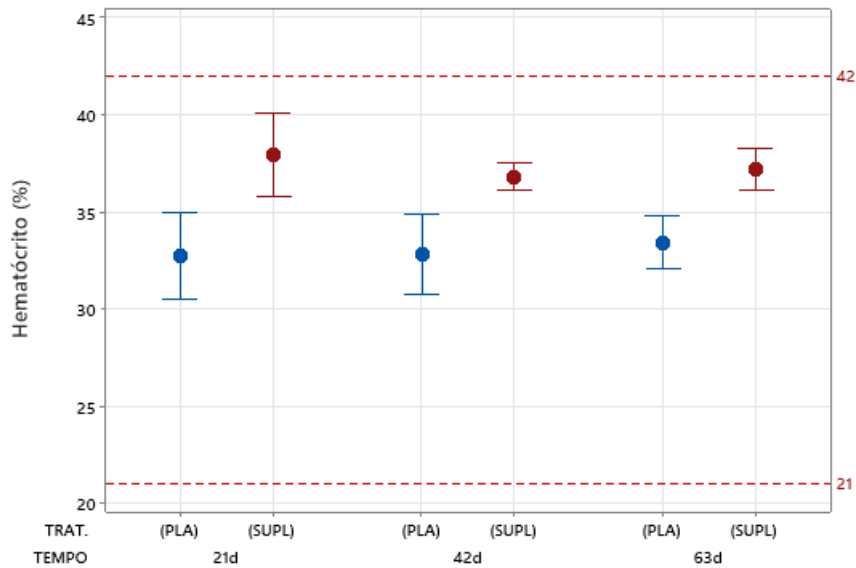
5.1.1. Hematócrito

O hematócrito é um indicador importante da proporção de células vermelhas no sangue, refletindo a capacidade de transporte de oxigênio e o estado de hidratação dos animais.

A suplementação promoveu aumento significativo nos valores de hematócrito ($p=0,003$), não havendo influência do tempo de amostragem ($p=0,938$) e da interação entre os dois fatores (tempo e tratamento) ($p=0,906$). Os valores absolutos de hematócrito nos animais suplementados foram superiores em média 1,49; 1,21 e 1,18, unidades percentuais nos tempos 21, 42 e 63 dias, respectivamente, quando comparados com as médias observadas nos animais recebendo tratamento placebo. Esse comportamento sugere que a suplementação tem um efeito positivo na manutenção de um volume maior de células vermelhas, possivelmente melhorando a oxigenação tecidual.

As linhas tracejadas vermelhas representam os limites de referência inferior (21%) e superior (42%) para o hematócrito. Todos os grupos permanecem dentro desses limites, indicando que ambos os tratamentos mantêm os animais dentro dos padrões fisiológicos aceitáveis, embora o tratamento SUPL esteja mais próximo do limite superior, potencialmente indicando melhor eficiência na função hematológica (Figura 3).

Figura 3 - Hematócrito, expresso em %, de bezerras lactentes da raça Holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ○).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).

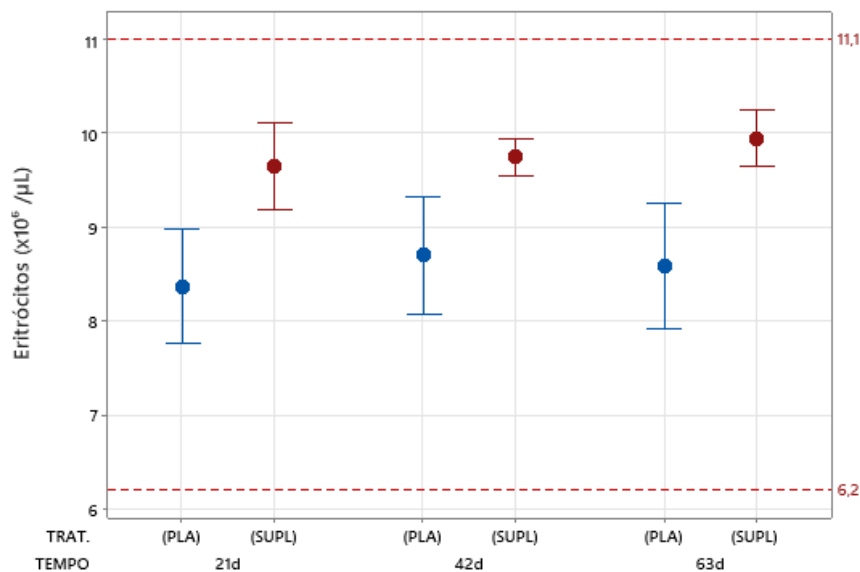
Fonte: Autoria própria.

5.1.2. Eritrócitos

A Figura 4 ilustra a contagem de eritrócitos ($10^6/\mu\text{L}$) de bezerras diante ao tratamento PLA (Placebo) e SUPL (Suplementação), ao longo de três tempos distintos, 21, 42 e 63 dias. A contagem de eritrócitos é um importante parâmetro hematológico que pode indicar o estado de saúde e a eficácia de intervenções nutricionais.

A suplementação elevou significativamente os valores de eritrócitos ($p=0,0004$), não havendo influência do tempo de amostragem ($p=0,858$) e da interação entre os dois fatores (tempo e tratamento) ($p=0,950$). Os valores médios observados para os animais suplementados foi de $9,78 \times 10^6/\mu\text{L}$ e, para os animais placebo, de $8,55 \times 10^6/\mu\text{L}$.

Figura 4 - Eritrócitos, expressos em $10^6/\mu\text{L}$, de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou com formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).

Fonte: Autoria própria.

A presença de barras de erro indica a variabilidade dos dados e a significância estatística das diferenças observadas. SUPL demonstra menor variabilidade, indicando um efeito mais consistente do tratamento ao longo do tempo.

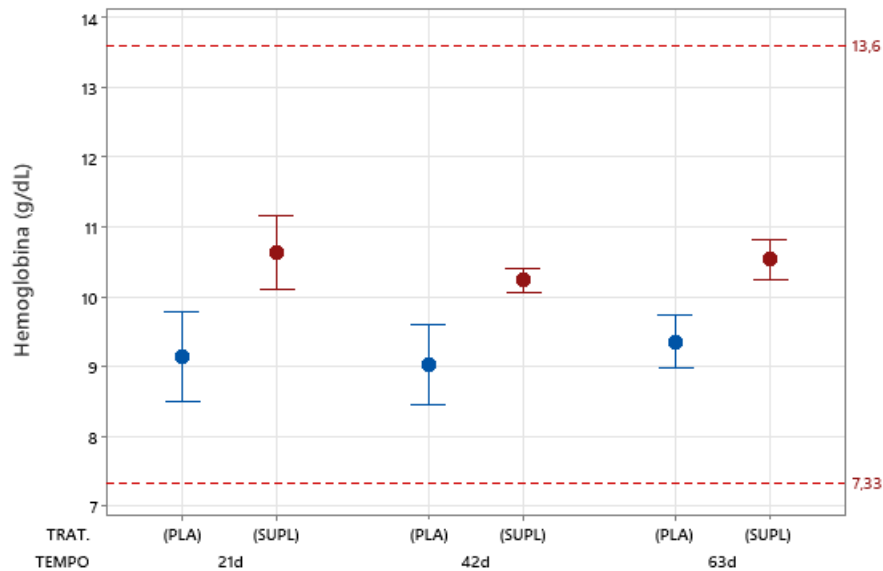
As linhas tracejadas vermelhas indicam os limites de referência inferior ($6,2 \times 10^6/\mu\text{L}$) e superior ($11,1 \times 10^6/\mu\text{L}$) para a contagem de eritrócitos. Todos os grupos permanecem dentro desses limites, sugerindo que, apesar das diferenças, ambos os tratamentos mantêm os animais dentro dos padrões fisiológicos aceitáveis.

5.1.3. Hemoglobina

A Figura 5 ilustra a concentração de hemoglobina (g/dL) de bezerras nos tratamentos PLA (Placebo) e SUPL (Suplementação), ao longo de três tempos distintos. Em todos os tempos avaliados, o tratamento SUPL exibiu concentração de hemoglobina superior em comparação com o tratamento PLA ($p=0,001$). Isso sugere que a suplementação teve um efeito positivo na melhoria dos níveis de hemoglobina, possivelmente refletindo em melhor capacidade de transporte de oxigênio e, conseqüentemente, em um melhor desempenho dos animais. Não houve influência

do tempo de amostragem ($p=0,770$) e da interação entre os dois fatores (tempo e tratamento) ($p=0,933$).

Figura 5 - Hemoglobina, expressa em g/dL, de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou com formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).
Fonte: Autoria própria.

A presença de barras de erro fornece informações sobre a variabilidade dos dados. SUPL mostra uma menor variabilidade, o que sugere um efeito mais previsível e consistente do tratamento ao longo do tempo.

As linhas tracejadas vermelhas representam os limites de referência inferior (7,33 g/dL) e superior (13,6 g/dL) para a concentração de hemoglobina. Todos os grupos estão dentro desses limites, indicando que os tratamentos mantêm os animais dentro dos parâmetros fisiológicos aceitáveis, embora SUPL tenda a posicionar os níveis de hemoglobina na faixa superior.

Este achado é relevante para o manejo nutricional de animais, sugerindo que a suplementação pode ser uma estratégia viável para melhorar a saúde e o desempenho fisiológico, otimizando a capacidade de transporte de oxigênio no sangue.

Cunha et al. (2022) avaliaram o efeito da suplementação de selênio e vitamina E em bovinos da raça Nelore confinados alimentados com feno de *Brachiaria* sp. Os

resultados mostraram que a suplementação com selênio e vitamina E resultou em menor incidência de alterações deletérias nos eritrócitos, mas não afetou significativamente a concentração total de eritrócitos, hemoglobina ou hematócrito durante o período de confinamento. De acordo com Cunha et al. (2022), isso sugere que os antioxidantes ajudam a proteger as hemácias sem alterar sua concentração.

Com relação à viabilidade dos eritrócitos, Krishnappa et al. (2022) observaram que a suplementação com antioxidantes pode influenciar a renovação e a proteção das células sanguíneas, mas não necessariamente a idade dos eritrócitos diretamente. No entanto, a proteção antioxidante pode ajudar a manter a viabilidade e a funcionalidade das hemácias por mais tempo, retardando os efeitos do envelhecimento celular. Os autores ressaltaram que a suplementação de ascorbato (vitamina C) em bovinos mais velhos promove redução do estresse oxidativo e melhora nos parâmetros hematológicos, como níveis de hemoglobina, o que pode ser indicativo de uma proteção indireta sobre a idade funcional dos eritrócitos.

A suplementação com antioxidantes, como o selênio e a vitamina E, tem mostrado aumentar a atividade de enzimas antioxidantes como a glutathione peroxidase (GSH-Px) nos eritrócitos, melhorando a capacidade antioxidante total e reduzindo a peroxidação lipídica. Isso contribui para a proteção das membranas dos eritrócitos contra danos oxidativos, o que pode ajudar a manter a saúde celular e potencialmente prolongar a vida útil das células (Shinde et al., 2008).

5.2. ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS

O Volume Corpuscular Médio (VCM) mede o volume médio das hemácias, que são as células vermelhas do sangue, além disso, é um parâmetro hematológico que indica o tamanho médio dos eritrócitos e pode refletir mudanças no estado nutricional e na saúde dos animais.

A Figura 6 apresenta os valores de VCM, expressos em fentolitros (fL), para os dois tratamentos avaliados, PLA (Placebo) e SUPL (Suplementação), ao longo dos três tempos de avaliação. Não foram observados efeitos significativos dos tratamentos ($p=0,116$) e na interação entre os fatores ($p=0,141$).

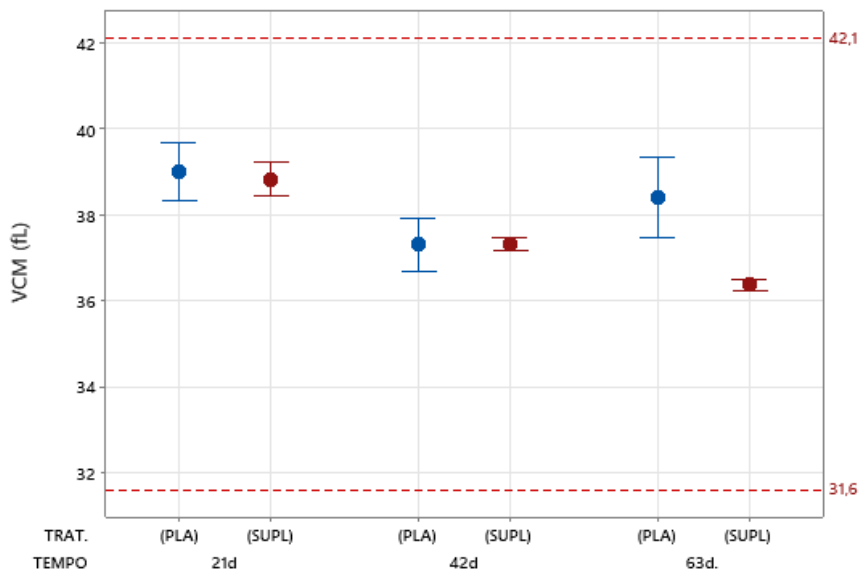
No VCM, o único efeito significativo observado foi nos tempos de avaliação ($p=0,009$), em que os maiores valores foram observados no tempo de 21 dias (38,92 fL), diferindo significativamente dos tempos de 42 e 63 dias (37,31 e 37,39,

respectivamente). Nos dois últimos tempos de avaliação, não houve diferença entre eles.

A presença de barras de erro indica a variabilidade dos dados. O tratamento SUPL apresenta uma menor variabilidade, sugerindo que os efeitos do tratamento são mais consistentes e previsíveis ao longo do tempo.

As linhas tracejadas vermelhas representam os limites de referência inferior (31,6 fL) e superior (42,1 fL) para o VCM. Todos os grupos permanecem dentro desses limites, indicando que, apesar das diferenças observadas, ambos os tratamentos mantêm os eritrócitos dentro dos padrões fisiológicos normais.

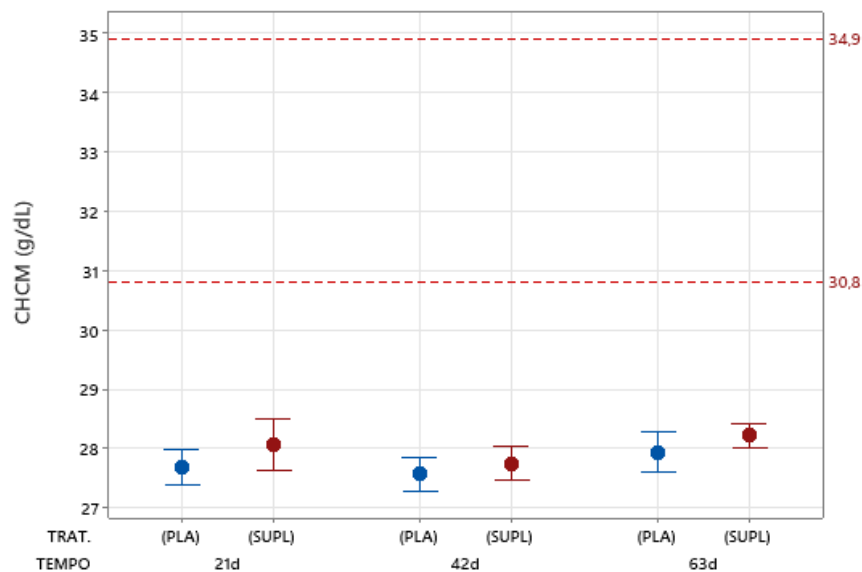
Figura 6 - Volume corpuscular médio (VCM), expresso em fL, de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou com formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).
Fonte: Autoria própria.

A concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Figura 7) não foi alterada pelos tratamentos avaliados ($p=0,273$) ou, de acordo com o tempo de avaliação ($p=0,413$), e interação ($p=0,945$), o que indica que a elevação de hematócrito e hemoglobina ocorreram pela elevação dos eritrócitos circulantes e, não pelo aumento do volume celular ou da concentração de hemoglobina.

Figura 7 - Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), expressa em g/dL, de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou com formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).

Fonte: Autoria própria.

Todos os grupos permanecem abaixo do limite inferior do intervalo de referência para a espécie, representado pela linha tracejada vermelha cujo limite é de 30,8 g/dL. Este efeito pode ser justificado pelo fato de que, de acordo com Hansen, Kampen; Lund (2006) e Jones e Alison (2007), em bezerros jovens, a contagem de hemácias pode ser maior, e o VCM e o CHCM podem ser menores do que em adultos.

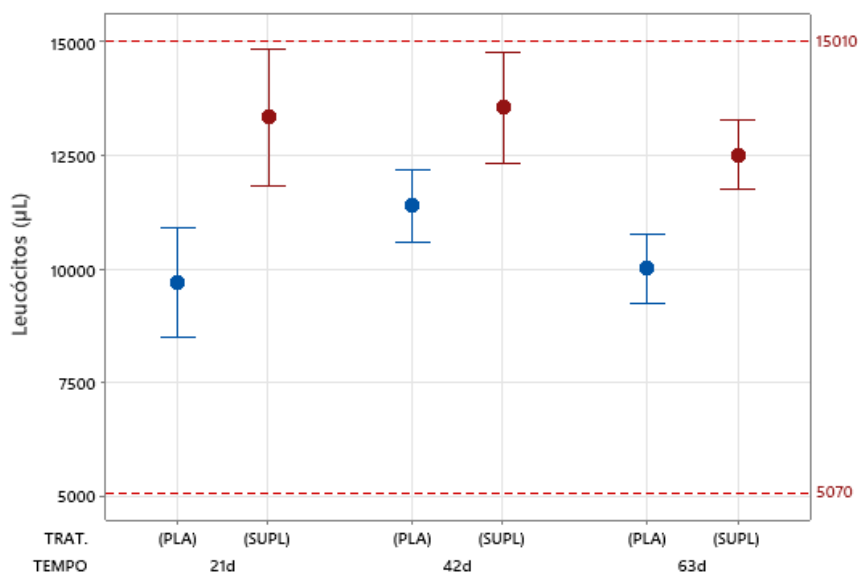
5.3. LEUCOGRAMA

5.3.1. Leucócitos

A suplementação elevou significativamente os valores de leucócitos ($p=0,0003$), não havendo influência do tempo de amostragem ($p=0,506$) e da interação entre os dois fatores (tempo e tratamento) ($p=0,776$). O valor médio observado para os animais suplementados é de 13.135 unidades por μL e, para os animais placebo, de 10.369 unidades por μL .

As vitaminas e os minerais melhoram o desempenho do crescimento e estimulam os sistemas antioxidantes e imunológicos nos bezerros leiteiros durante o período de transição da dieta no verão. Bordignon et al. (2019) observaram aumento no número total de leucócitos como resultado da elevação nas contagens de neutrófilos (dia 45) e monócitos (dias 30 e 45) no grupo de animais tratados com vitaminas e minerais injetáveis.

Figura 8 - Leucócitos, expressos em unidades por μL , de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou com formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).
Fonte: Autoria própria.

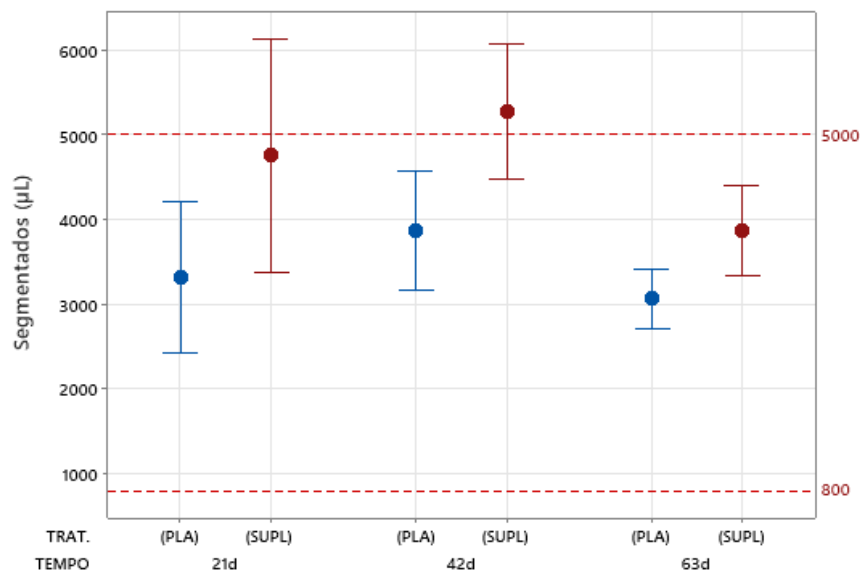
As linhas tracejadas vermelhas representam os limites de referência inferior (5.070) e superior (15.010) para o leucócito. Todos os grupos permanecem dentro desses limites, indicando que, apesar das diferenças observadas, ambos os tratamentos mantêm os leucócitos dentro dos padrões fisiológicos normais.

5.3.2. Neutrófilos segmentados

A quantidade de neutrófilos segmentados não foi alterada pelos tratamentos ($p=0,081$), pelo tempo ($p=0,424$) e, pela interação entre tratamento e tempo

($p=0,0916$). A presença de barras de erro indica a alta variabilidade dos dados, sendo um possível reflexo das condições de manejo. Neste mesmo sentido, os valores de referência dos animais SUPL no tempo 21 estiveram próximos do limite superior e, aos 42 dias, acima dessa referência para a espécie.

Figura 9 – Neutrófilos segmentados, expressos em unidades por μL , de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou com formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).

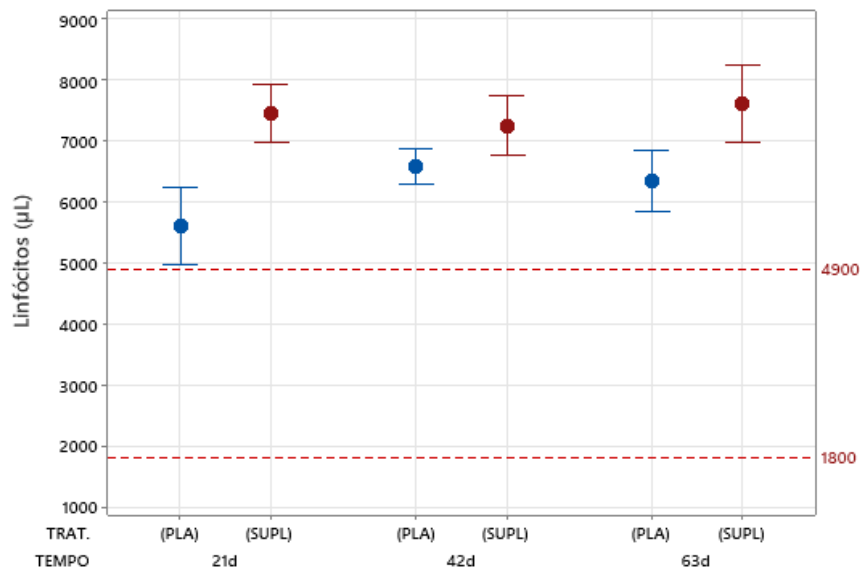
Fonte: Autoria própria.

5.3.3. Linfócitos

A quantidade de linfócitos nos animais suplementados foi superior à observada nos animais com placebo ($p=0,004$). Não houve efeito do tempo nessa quantidade ($p=0,643$), tão como na interação dos fatores tempo e tratamento ($p=0,526$). Os valores médios observados nas três amostragens foram de 7.436,70 unidades por μL no grupo suplementado e, no grupo placebo 6.178,23 unidades por μL .

Wei et al. (2023) conduziram estudo com animais tratados com duas doses de 0,33 mL/kg de um complexo mineral (zinco, cobre, selênio e manganês) nos dias de vida (DOL) 1 e 30. Observaram aumento significativo no número de linfócitos (DOL 45), bem como nos níveis séricos de imunoglobulinas (IgM e IgG) nos animais tratados (DOL 15 e 30).

Figura 10 - Linfócitos, expressos em unidades por μL , de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



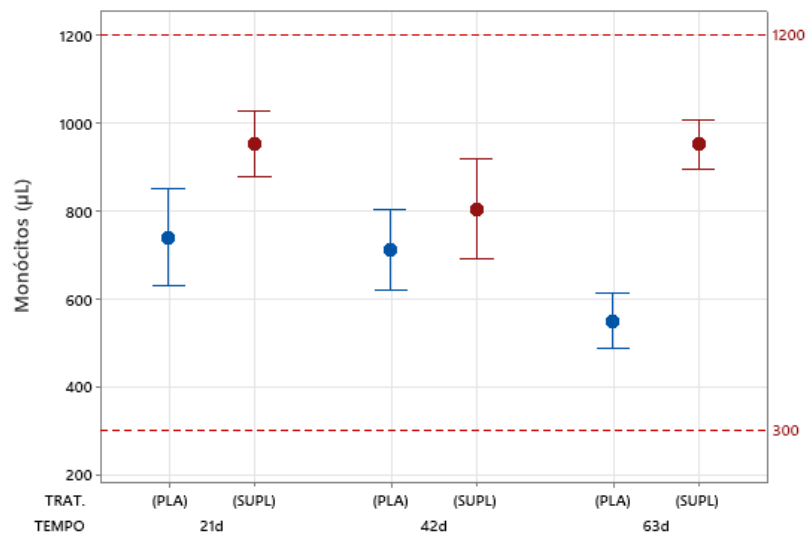
Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).
Fonte: Autoria própria.

Os valores da quantidade de linfócitos, para ambos os grupos (PLA e SUPL), estiveram acima do limite superior de referência para a espécie durante todo o experimento.

5.3.4. Monócitos

Os valores de monócitos foram influenciados pelos tratamentos, independentemente do tempo de amostragem ($p=0,002$). Os animais com suplementação com antioxidantes apresentaram média de monócitos superior à média dos animais não suplementados. Os valores ficaram dentro do intervalo de normalidade para a espécie.

Figura 11 - Monócitos, expressos em unidades por μL , de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou com formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).

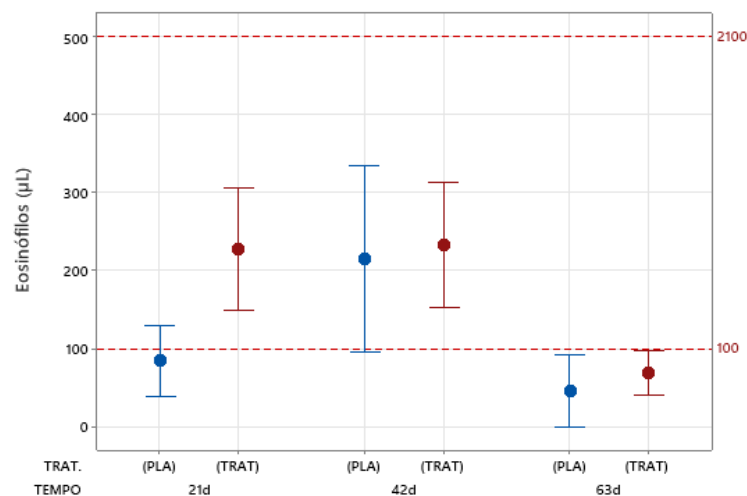


Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).
Fonte: Autoria própria.

5.3.5. Eosinófilos

A quantidade de eosinófilos circulantes não foi influenciada pelo uso de antioxidante ($p=0,305$), tão como do tempo de amostragem ($p=0,082$). Os valores ficaram dentro do intervalo de normalidade para a espécie até os 42 dias e, abaixo do limite inferior aos 63 dias.

Figura 12 - Eosinófilos, expressos em unidades por μL , de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).

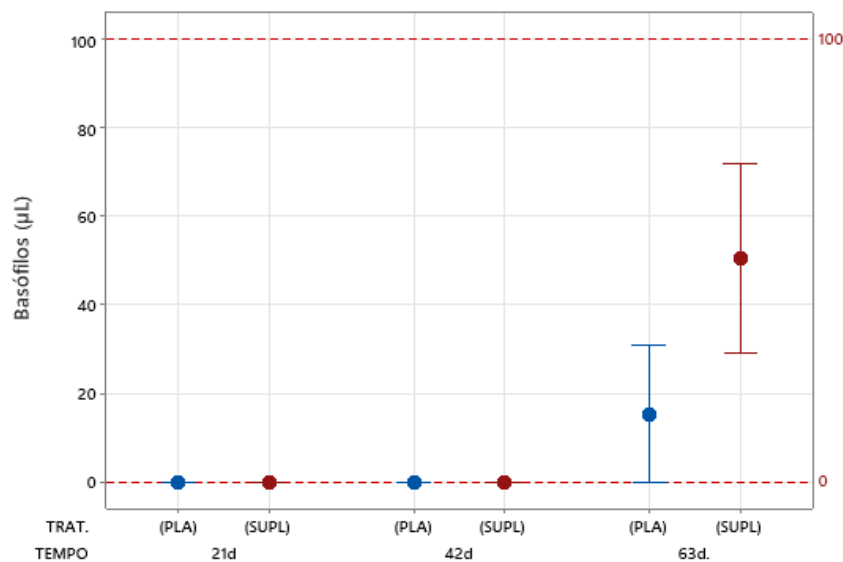


Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).
Fonte: Autoria própria.

5.3.6. Basófilos

A quantidade de basófilos foi influenciada somente pelo tempo de amostragem ($p=0,004$), não havendo efeito significativo da suplementação ($p=0,188$). Nos dois primeiros períodos amostrais, não foram observados basófilos na avaliação diferencial e, valor médio de 32,95 unidades por μL no terceiro período amostral, estando dentro do intervalo de normalidade para a espécie.

Figura 13 - Basófilos, expressos em unidades por μL , de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



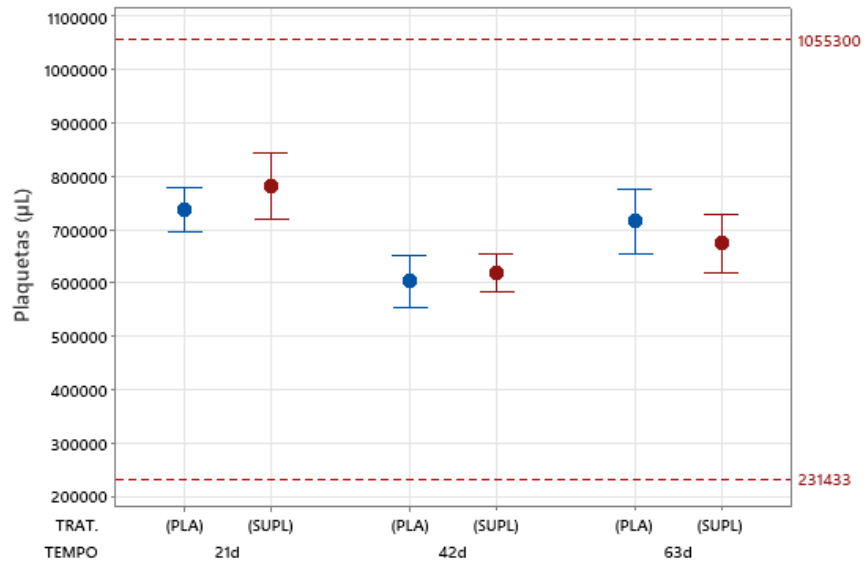
Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).

Fonte: Autoria própria.

5.4. PLAQUETAS

O número de plaquetas circulantes não foi influenciado pela suplementação ($p=0,883$), sendo observado efeito significativo do tempo de amostragem ($p=0,021$). Valores superiores foram observados aos 21 dias (758.350 unidades por μL), com redução significativa aos 42 dias (610.250 unidades por μL) e, nova elevação aos 63 dias (693.795 unidades por μL), sendo este último, não diferindo significativamente aos valores observados aos 21 e 42 dias.

Figura 13 - Plaquetas, expressos em unidades por μL , de bezerras lactentes da raça holandesa suplementadas semanalmente com forma farmacêutica semissólida oleosa de uso oral com antioxidantes (SUPL, ●), ou formulação placebo sem antioxidantes (PLA, ●).



Barras associadas à média representam o erro padrão da média. Linhas pontilhadas, em vermelho, representam intervalo de normalidade para a espécie segundo Weiss, Wardrop e Schalm (2010).

Fonte: Autoria própria.

6 CONCLUSÃO

A suplementação com antioxidantes, administrada por via oral em forma de pasta altera parâmetros hematológicos de bezerras lactentes leiteiras da raça Holandesa, com aumento nos eritrócitos circulantes e nos leucócitos por aumento dos linfócitos e monócitos circulantes, indicando melhora na imunidade inata das bezerras.

REFERÊNCIAS

- AL-GUBORY, K.H.; FOWLER, P.A.; GARREL, C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, p. 1634–1650. 2010.
- ANDRIGUETTO, J. M. et al. **Nutrição animal**. São Paulo, v.1.395. 1999.
- AURICH J. E.; DOBRINSKI, I.; PETERSEN, A. et al. 1993. Influence of labor and neonatal hypoxia on sympathoadrenal activation and methionine encephalin release in calves. **American Journal of Veterinary Research**. 54:1333-1338.
- BARREIROS, A. L. B. S et al. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p 113-123, 2006.
- BERNARDINI, D.; GERARDI, G.; PELI, A.; COSTA, L.; AMADORI, M.; SEGATO, S. The effects of different environmental conditions on thermoregulation and clinical and hematological variables in long-distance road-transported calves. **Journal of animal science**, v.90, n.4, p.1183-91, 2012.
- BORDIGNON, R., VOLPATO, A., GLOMBOWSKY, P., SOUZA, C., BALDISSERA, M., SECCO, R., PEREIRA, W., LEAL, M., VEDOVATTO, M., & SILVA, A. (2019). Nutraceutical effect of vitamins and minerals on performance and immune and antioxidant systems in dairy calves during the nutritional transition period in summer.. **Journal of thermal biology**, 84, 451-459 .
<https://doi.org/10.1016/J.JTHERBIO.2019.07.034>.
- BRODERIUS, M et al. Levels of plasma ceruloplasmin protein are markedly lower following dietary copper deficiency in rodents. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology**, v. 151, n. 4, p. 473-479, 2010.
- BRUN-HANSEN HC, KAMPEN AH, LUND A: 2006, Hematologic values in calves during the first 6 months of life. **Vet Clin Pathol** 35:182–187
- BRUN-HANSEN, H. C.; KAMPEN, A. H.; LUND, A. Hematologic values in calves during the first 6 months of life. **Veterinary Clinical Pathology**, v.35, n.2, p.182–187. 2006.
- CARROLL, J. A; FORSBERG, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 1, p. 105-149, 2007.
- CAZAROTTO, C., BOITO, J., GEBERT, R., REIS, J., MACHADO, G., BOTTARI, N., MORSCH, V., SCHETINGER, M., DOLESKI, P., LEAL, M., BALDISSERA, M., & SILVA, A. (2018). Metaphylactic effect of minerals on immunological and antioxidant responses, weight gain and minimization of coccidiosis of newborn lambs.. **Research in veterinary science**, 121, 46-52 . <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.09.003>.

- CHANDRA, R. K.; KUMARI, S. Nutrition and immunity: an overview. **The Journal of nutrition**, v.124, p.1433S-1435S. 1994.
- CHARLTON, S.; EWING, W. **The Minerals Directory**. Context Products Ltd, Leicestershire, UK, p.150, 2007.
- CHEW, B. P. Vitamin A and β -Carotene on Host Defense1. **Journal of dairy science**, v. 70, n. 12, p. 2732-2743, 1987.
- CHIRASE, Norbert K. et al. Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. **American journal of veterinary research**, v. 65, n. 6, p. 860-864, 2004.
- COELHO, S. G. Desafios na criação e saúde de bezerros. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, 2009.
- CUERVO, W.; SORDILLO, L.; ABUELO, A. Oxidative Stress Compromises Lymphocyte Function in Neonatal Dairy Calves. **Antioxidants**, v.10, n.2, p. 255, 2021.
- CUNHA, R., COSTA, G., PINTO, U., FERREZIN, J., CUNHA, P., & FIORAVANTI, M. (2022). Erythrogram and oxidative stress in confined cattle fed with *Brachiaria* sp hay and supplemented with antioxidants. **Ciência Animal Brasileira**. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v22e-70611e>.
- DALTON, T.P., SHERTZER, H.G., PUGA, A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.67, p.101, 2002. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.39.1.67>
- DINARDO, F.; MAGGIOLINO, A.; MARTINELLO, T.; LIUZZI, G.; ELIA, G.; ZIZZO, N.; LATRONICO, T.; MASTRANGELO, F.; DAHL, G.; PALO, P. Oral administration of nucleotides in calves: Effects on oxidative status, immune response, and intestinal mucosa development. **Journal of dairy Science**, v.105, n.5, p. 4393-4409, 2022.
- DORTON, K. L. et al. Effects of copper source and concentration on copper status and immune function in growing and finishing steers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 110, n. 1-4, p. 31-44, 2003.
- EICHER, S. D. et al. Leukocyte Functions of Young Dairy Calves Fed Milk Replacers Supplemented with Vitamins A and E1. **Journal of dairy science**, v. 77, n. 5, p. 1399-1407, 1994.
- FOX, P. L. The copper-iron chronicles: the story of an intimate relationship. **Biometals**, v. 16, n. 1, p. 9-40, 2003.
- GUO, J.; MONTEIRO, A.; WENG, X.; AHMED, B.; LAPORTA, J.; HAYEN, M.; DAHL, G.; BERNARD, J.; TAO, S. Short communication: Effect of maternal heat stress in late gestation on blood hormones and metabolites of newborn calves. **Journal of dairy science**, v.99, n.8, p.6804-6807, 2016.
- HICKEY, M.; DRENNAN, M.; EARLEY, B. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-

phase proteins and in vitro interferon-gamma production. **Journal of animal science**, v.81, n.11, p.2847-55, 2003.

HOGAN, J. S. et al. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2795-2803, 1993.

HURLEY, W. L; DOANE R. M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 72 p. 784-804, 1989.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de Leite no Brasil. Censo 2022**. Disponível em < <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>>. Acesso em 30 jan. 2024.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p

JONES ML, ALLISON RW: 2007, Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Vet Clin North Am Food Anim Pract** 23:377–402, v.

JOSHI, V.; GUPTA, V.; BHANUPRAKASH, A.; MANDAL, R.; DIMRI, U.; AJITH, Y. Haptoglobin and serum amyloid A as putative biomarker candidates of naturally occurring bovine respiratory disease in dairy calves. **Microbial pathogenesis**, v.116, p.33-37, 2018.

KRISHNAMOORTHY, U. et al. Rearing young ruminants on milk replacers and starter feeds. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2012.

KRISHNAPPA, K., DIMRI, U., KARUNANITHY, M., SINGH, S., CHAUDHARY, A., GAUR, G., SINGH, G., PANDE, M., JOSHI, V., VERMA, M., GOWDA, H., & ANGMO, S. (2022). Impact of The Ageing on Oxidant/Antioxidant Balance And Hematology of Indigenous Cow and Its Amelioration by Ascorbic Acid. . <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1161042/v1>.

KRUSE-JARRES, J. D. The significance of zinc for humoral and cellular immunity. **Journal of trace elements and electrolytes in health and disease**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 1989.

LEI, L.; MU, J.; ZHENG, Y.; LIU, Y. Selenium Deficiency-Induced Oxidative Stress Causes Myocardial Injury in Calves by Activating Inflammation, Apoptosis, and Necroptosis. **Antioxidants**, v.12, n.2, p.229, 2023.

LING, T.; HERNANDEZ-JOVER, M.; SORDILLO, L.; ABUELO, A. Maternal late-gestation metabolic stress is associated with changes in immune and metabolic responses of dairy calves. **Journal of dairy science**, v.101, n.7, p.6568-6580, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14038>.

LOUIE, A.; ROWE, J.; LOVE, W.; LEHENBAUER, T.; ALY, S. Effect of the environment on the risk of respiratory disease in preweaning dairy calves during summer months. **Journal of dairy science**, v.101, n.11, p.10230-10247, (2018).

MAGGINI, S. et al. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67, n. 1, p. 3-5, 2008.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Mapa do leite: políticas públicas e privadas para o Leite**. 2024. Disponível em < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/portal-do-leite/mapa-do-leite/>>. Acesso em 30 jan. 2024.

MARKLUND, St. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. **Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum**, v. 492, p. 19-23, 1980.

MCDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition. **Academic Press**, p. 524, 1992.

MOHRI, M.; SHARIFI, K.; EIDI, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. **Research in veterinary science**, v. 83, n. 1, p. 30-39, 2007.

NAEEM, M.; SHEIKH, I.; RAFIQ, M.; JAMEEL, M.; SHAH, S.; KHAN, D.; AHMED, M.; IQBAL, M.; NASEEM, M.; KHAN, N.; MEHMOOD, K; SABA, I. Effects of antioxidants on growth and total antioxidant capacity of neonate calves. **Pak-Euro Journal of Medical and Life Sciences**, v. 6, n. 1, 2023..

NAGY, W. D. 2009. Resuscitation and Critical Care of Neonatal Calves. In: Bovine neothalotogy. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. 25(3):553-822.

NEUWIRTH, J.; NORTON, J.; RAWLINGS, C.; THOMPSON, F.; WARE, G. Physiologic responses of dairy calves to environmental heat stress. **International Journal of Biometeorology**, v.23, p.243-254, (1979).

NRC – National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle. updated 7th.ed. Washington, DC: **National Academy Press**, 2000. 242p.

NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, DC: **National Academy Press**, 2001.

OMUR, A. et al. Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 19, n. 4, p. 697-706, 2016.

OTOMARU, K.; MIYAHARA, T.; SAITA, H.; MAEDA, Y. Effects of Vitamin E supplementation on antioxidant, inflammatory biomarker, and cell viability of peripheral blood mononuclear cells from japanese black calves with or without lipopolysaccharide stimulation. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v.68, n.5, p.470-474, 2022.

OTOMARU, K.; OISHI, S.; FUJIMURA, Y.; IWAMOTO, Y.; NAGAI, K.; IJIRI, M. Effects of Vitamin C Supplementation on The Blood Oxidative Stress and Antibody Titre Against Histophilus Somni Vaccination in Calves. **Journal of Veterinary Research**, v.65, p.73 – 78, 2020.

OVERTON, T. R; YASUI, T. Practical applications of trace minerals for dairy cattle. **Journal Animal Science**, v. 92, p. 416-426. 2014.

PEREIRA, E. S. et al. **Novilhas leiteiras**. Graphiti Gráfica e Editora Ltda. v.1, n. 1, 2010.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental** 14ª edição. Nobel, Piracicaba 210p, 2000.

QUIGLEY, J.D.; DREWRY J. J. Practical considerations of transition cow and calf management. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre-and postcalving. **Journal Dairy Science**, v.81, p.2779-2790, 1998.

RAJABIAN, F.; MOHRI, M.; HEIDARPOUR, M. Relationships between oxidative stress, haematology and iron profile in anaemic and non-anaemic calves. **Veterinary Record**, v.181, p.265 – 265, 2017.

REN, F., WANG, K., ZHANG, T., JIANG, J., NICE, E.C., HUANG, C. New insights into redox regulation of stem cell self-renewal and differentiation. **Biochemica Biophysica Acta**, v.1850, p.1518–1526, 2015.

ROADKNIGHT, N.W.; COURTMAN, N.F.; MANSELL, P.D.; JONGMAN, E.C.; LOH, Z.A.; FISHER, A.D. Biochemistry and hematology reference intervals for neonatal dairy calves aged 5-12 days. **Vet Clin Pathol**, v.50, n.2, p.278-286, 2021

ROLAND, L.; DRILLICH, M.; IWERSEN, M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.26, p. 592-598, 2014

SCHNEIDER, C. D., OLIVEIRA, A. R de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-13, 2004.

SHARMA M C. et al. Therapeutic management of copper deficiency in buffalo heifers: Impact on immune function. **Veterinary Research Communications**, v. 32, n. 1, p. 49-63, 2007.

SHEFFY, B. E; SCHULTZ, R. D. Influence of vitamin E and selenium on immune response mechanisms. **Federation Proceedings**, v. 38. n. 7, p. 2139-2143, 1979.

SHINDE, P., DASS, R., GARG, A., & PATTANAIK, A. (2008). Effect of vitamin E and selenium supplementation on antioxidant status of male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. **Journal of Animal and Feed Sciences**, 17, 318-327. <https://doi.org/10.22358/JAFS/66611/2008>.

SHINDE, P.; DASS, R.; GARG, A.; PATTANAIK, A. Effect of vitamin E and selenium supplementation on antioxidant status of male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.17, p.318-327, 2008.

SIES, H.; JONES, D.P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. **Nature Review of Molecular and Cellular Biology**, v.21, p.363–383, 2020.

SIES, Helmut. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **The American journal of medicine**, v. 91, n. 3, p. S31-S38, 1991.

SILVA, M.R.H.; LEÃO, G.F.M. Manejo de bezerras leiteiras. Disponível em: <<http://www.gadoleiteiro.iepec.com/noticia/imprimirNoticiaPopUp&idNoticia=6626>>. 2014. Acesso em: 31 de jan. 2024.

SORDILLO, L. M. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity¹. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4967-4982. 2016.

SPEARS, J. W. Micronutrients and immune function in cattle. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 59, n. 04, p. 587-594, 2000.

SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**. v. 176, n. 1, 70-76. 2008.

TAO, S.; MONTEIRO, A.; THOMPSON, I.; HAYEN, M.; DAHL, G. Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. **Journal of dairy science**, v.95, n.12, p.7128-36, 2012.

TOMASI, T. et al. Metaphylactic effect of minerals on the immune response, biochemical variables and antioxidant status of newborn calves. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.102, n. 4, p. 819-824. 2018.

TOMLINSON, S.; LOMBARD, J.; GARRY, F. **The Relationship between dystocia and dairy calf morbidity and mortality**. 2012. Disponível em <https://www.cvmbs.colostate.edu/ilm> >. Acesso em 31 de jan. 2024.

UNDERWOOD, E. J. **The mineral nutrition of livestock**. Cabi, 1999.

VAN SAUN, R. J. et al. Rational approach to selenium supplementation essential. **Feedstuffs**, v. 62, n. 3, p. 15-17, 1990.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VOLPATO, A. et al. A prophylactic protocol to stimulate the immune response also control infectious disease and, consequently, minimizes diarrhea in newborn heifers. **Microbial pathogenesis**, v. 121, p. 262-268. 2018.

WALSH, D.; KENNEDY, D.; GOODALL, E.; KENNEDY, S. Antioxidant enzyme activity in the muscles of calves depleted of vitamin E or selenium or both. **British Journal of Nutrition**, v.70, p.621 - 630. 1993.

WANG, Y.; MENG, S.; WANG, S.; WANG, Z.; DOU, X.; DOU, M.; LI, Y.; MA, Y.; HE, L.; SHAO, Q.; ZHANG, C. Monoammonium glycyrrhizinate improves antioxidant capacity of calf intestinal epithelial cells exposed to heat stress in vitro. **Journal of animal Science**, v. 101, 2023.

WEISS, D. J., WARDROP, K. J., & SCHALM, O. W. (2010). **Schalm's veterinary hematology** (6. ed.). Wiley-Blackwell.

WEISS, W. P. **Antioxidant nutrients and milk quality**. Ohio Agricultural Research and Development Center The Ohio State University. 2002.

WITTEWER, F. **Estresse oxidativo e selênio em bovinos**. Instituto de Ciencias Veterinarias Universidad Austral de Chile. 1998.

WOLFE, A.R.; REZAMAND, P.; AGUSTINHO, B.C.; KONETCHY, D.E.; LAARMAN, A.H. Effects of weaning strategies on health, hematology, and productivity in Holstein dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.106, n.10, p. 7008-7019, 2023.

WU, L et al. Critical thresholds of antioxidant and immune function parameters for Se deficiency prediction in dairy cows. **Biological Trace Element Research**, v. 172, n. 2, p. 320-325, 2016.

Anexo A – Protocolo de aprovação do projeto de pesquisa pelo CEUA



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

**RESOLUÇÃO – PARECER CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA PARA USO DE ANIMAIS**

PROTOCOLO 2200029

TÍTULO DO PROJETO/AULA PRÁTICA/TREINAMENTO

SUPLEMENTAÇÃO DE BEZERRAS LEITEIRAS COM ANTIOXIDANTES

RESPONSÁVEL

Nome completo	Liandra Maria Abaker Bertipaglia
Instituição	Universidade Brasil
Unidade	Descalvado
Departamento / Disciplina	Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal
Telefone	19 97134 6665
E-mail	liandra.bertipaglia@universidadebrasil.edu.br

RESOLUÇÃO – PARECER

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, na sua reunião de 30/06/2022, APROVOU os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo.


Assinatura – Coordenador da Comissão

Prof. Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano

Campus Fernandópolis

Estrada Projetada F1, s/n, Fazenda Santa Rita - Fernandópolis/SP | 15600-000

Central de Relacionamento com o Aluno - 08007807070

www.ub.edu.br