



## CONDIÇÃO CLÍNICA DA VACA AO PARTO E SUA RELAÇÃO COM A EFICIÊNCIA DA COLOSTRAGEM NO BEZERRO

### CLINICAL CONDITION OF THE COW IN CALVING AND ITS RELATION TO COLOSTRAL EFFICIENCY IN THE CALF

**Autores:** Maila PALMEIRA, Giovanni de Mendonça ARAÚJO, Kebb Klobukoski BORSTNEZ, Augusto SCHNEIDER, Ivan BIANCHI, Fabiana MOREIRA, Vanessa PERIPOLLI, Juahil OLIVEIRA, Elizabeth SCHWEGLER.

**Identificação autores:** IFC- campus Araquari, UFPEL, Bolsista PIBIC, Orientador IFC- campus Araquari.

#### RESUMO

As exigências metabólicas no período de transição em vacas podem levar a deficiências de minerais, como cálcio e magnésio, trazendo consequências na saúde desses animais e sua prole. A condição clínica da vaca, pode acarretar a decréscimo na qualidade do colostro, o que por sua vez se reflete na imunidade do bezerro, já que as imunoglobulinas advindas do colostro são a única defesa contra possíveis microrganismos patogênicos. A paraoxonase-1 (PON1) é uma proteína de fase aguda inflamatória negativa capaz de indicar diversas enfermidades e condições estressantes, tanto em animais adultos quanto em recém-nascidos, sendo diminuída em períodos críticos, como o pós-parto, balanço energético negativo, infecção bacteriana e má nutrição. Tendo em vista os efeitos negativos da redução de minerais e da PON1, além das diferenças metabólicas entre ordem de parto e raça da vaca, o objetivo do presente estudo foi avaliar a concentração de minerais e de PON-1, relacionadas a condição clínica, a raça e a ordem de parto da vaca, e sua influência na imunidade do bezerro em animais de baixa produção. O estudo foi conduzido com 16 animais, sendo as vacas e seus respectivos bezerros, que tiveram sangue coletado 24 horas após o parto. Foram feitas análises de cálcio, magnésio, paraoxonase na vaca e no bezerro e ppt no bezerro. Bezerros nascidos de vacas primíparas tiveram maior atividade da enzima paraoxonase (18,60U/mL) quando comparados a bezerros nascidos de multiparas (6,62U/mL). Fêmeas tiveram maior atividade da enzima (15,23U/mL) quando comparadas aos machos (4,08U/mL) ( $P < 0,05$ ). Pode-se concluir que a ordem de parto e o sexo do bezerro influencia sua imunidade, sendo relacionado com o desafio metabólico da vaca.

**Palavras-chave:** Minerais, imunidade, paraoxonase-1.

#### ABSTRACT

Metabolic demands in the transition period in cows lead to mineral deficiencies such as calcium and magnesium, impairing the health of these animals and their respective calves. The clinical condition of the cow may lead to a decrease in colostrum quality, which in turn is reflected in calf immunity, since colostrum immunoglobulins are the only defense against possible pathogenic microorganisms. Paraoxonase-1 (PON1) is a negative inflammatory acute phase protein capable of indicating stressful conditions and diseases in both adult and newborn animals, and is decreased in critical periods such as postpartum, negative energy balance, bacterial infection and poor nutrition.

Given the negative effects of mineral reduction and PON1, as well as the metabolic differences between calving order and cow breed, the aim of the present study was to evaluate the concentration of minerals and PON-1 related to clinical condition, breed and calving order, and its influence on calf immunity in low production animals. The study was conducted with 17 animals, the cows and their calves, who had blood collected 24 hours after calving. Calcium, magnesium, paraoxonase analyzes were performed in cow and calf and ppt in calf. Statistical differences were found between calves from primiparous and multiparous cows ( $p < 0.05$ ). Calves born from primiparous cows had higher PON-1 activity (18.60U/mL) than the ones born from multiparous (6.62U/mL). Females had higher enzyme activity (15.2389U / mL) when compared to males (4.0897U / mL). It can be concluded that calving order and calf sex influence its immunity, being related to the metabolic challenge of the cow.

**Keywords:** Minerals, immunity, paraoxonase-1.

## INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O aumento da demanda mineral no peri-parto em vacas leiteira leva a decréscimo na saúde da vaca e conseqüentemente de sua respectiva bezerra (WILHELM et al., 2017). Além disso, fatores com raça e diferenças entre primíparas e múltiparas possuem relação com a qualidade do colostro e desafio metabólico, já que primíparas tem menor produção (GONÇALVES et al, 2002).

A saúde da bezerra, vital para a propriedade leiteira, sendo o futuro do plantel, pode ser mensurada através das proteínas plasmáticas totais (PPT), reflexo dos anticorpos maternos, adquiridos pela ingestão de colostro, com sua mensuração recomendada 24 horas após o parto, no sangue do bezerro (OLIVEIRA et al., 2005). Outro mineral de importância metabólica é o magnésio. Níveis séricos altos de Magnésio estão relacionados a menor incidência de patologias no peri-parto e pós-parto, como distocias, retenção de placenta e endometrite. Com isso a mensuração desse mineral durante o período de transição pode ser útil para predição da saúde no peri-parto (JEONG et al., 2018)

Para diagnóstico de estresse, comumente em períodos de alto desafio metabólico, a paraoxonase (PON-1), uma proteína de fase aguda negativa, pode ser mensurada (CERON et al., 2014). Essa proteína encontra-se diminuída em resposta a citocinas pró-inflamatórias, causando sinais sistêmicos, como metabolismo catabólico, aumento de lipólise e proteólise muscular (KELLEY et al., 1994).

Tendo em vista os recentes estudos acerca da saúde vaca no bezerro neonato, o objetivo desse trabalho foi verificar se o perfil mineral das vaca ao parto, sua categoria e raça e a influência na imunidade do bezerro.

## METODOLOGIA

Foram utilizadas 16 vacas, sendo 12 da raça Holandês, e 4 mestiças (Jersey x Holandês) e seus respectivos bezerros recém-nascidos. Todos os animais eram mantidos em sistema semi-extensivo, recebendo a mesma dieta a base de braquiária como pastagem pré-parto e 3 kg de ração específica para a categoria (18% de proteína bruta). O rebanho possuía uma média de 14 kg/dia/vaca de leite.

Vinte e quatro horas pós-parto foram realizadas as coletas de sangue da vaca e dos respectivos bezerros, para análise bioquímica. O sangue foi coletado da veia jugular, sem uso de anticoagulante. Em seguida as amostras centrifugadas durante 15 minutos a 1800 g. Posteriormente, o soro foi depositado em tubos tipo eppendorf®, e congelados a -20°C. A partir das amostras coletadas, foram realizadas as análises bioquímicas de cálcio e magnésio, quantificadas por métodos colorimétricos usando kits comerciais da marca LABTEST®. A atividade de paraoxonase 1 sérica foi quantificada em todos os animais, através da taxa de formação de fenol, caracterizado pelo modo de reação cinética. Para a análises de proteínas plasmática totais (PPT) nos bezerros, foi coletado sangue com anticoagulante (EDTA), e logo após a centrifugação foram quantificadas, através de refratômetro óptico portátil.

As vacas foram caracterizadas em grupos: de acordo com cálcio sérico Grupo normocalcêmico ou com hipocalcemia subclínica (abaixo de 8mg/dl de Ca sérico), de acordo com raça Holandês ou mestiça, e ainda sua categoria primíparas e múltíparas. Foi considerado também os sexos dos bezerros.

Estatística : Os resultados estão apresentados na forma de média ± erro padrão da média (EPM). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Foram realizadas análises de variância utilizando o método de Tukey para comparação entre médias. No modelo estatístico os animais foram categorizados da seguinte forma: Vacas em Normo e hipocalcemicas (subclínica), Primíparas ou múltíparas, Holandês ou mestiça. Os bezerros em macho e fêmea. Os valores de  $P < 0.05$  foram considerados significantes.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Oito vacas foram consideradas hipocalcêmicas, sendo apenas uma primípara. Os animais não foram categorizados pelas concentrações de magnésio, pois nenhuma vaca apresentou baixa concentração do mineral. O sexo do bezerro influenciou na atividade de paraoxonase-1 ( $p < 0,05$ ), sendo as fêmeas com maior atividade (15,24 U/mL) quando comparadas aos machos (4,09 U/mL). Os demais dados mensurados de acordo com a categorização estão demonstrados na tabela 1.

Tabela 1. Valores sanguíneos de minerais e paraoxonase da vaca e do bezerro e ppt do bezerro 24 h após o parto, categorizados pela calcemia, raça e categoria.

Categorizações/ Marcadores	Ca Vaca (mg/dl)	Ca Bezerro (mg/dl)	Mg Vaca (mg/dl)	Mg Bezerro (mg/dl)	PON1 Vaca (U/mL)	PON1 Bezerro (U/mL)	PPT g/dl
Hipocalcêmica	7,47	9,69	2,37	2,70	56,87	12,51	5,97
Normocalcêmica	8,57 b	9,57 a	2,86 b	2,81 a	67,01 a	8,69 a	5,98 a
<i>Valor de p</i>	0,0359	0,5312	0,0444	0,7523	0,5720	0,1974	0,8450
Holandês	8,35	9,52	2,62	3,05	63,12	9,44	5,96

Mestiço	7,57	9,86	2,74	2,44	62,19	12,39	6,00
Valor de p	0,4997	0,7956	0,3533	0,1589	0,9105	0,3702	0,7091
Primípara	8,10	10,17	2,90	2,52	69,09	18,60	5,92
Múltipara	8,12 a	9,38 a	2,56 a	2,98 a	60,23 a	6,62 b	6,00 a
Valor de p	0,6051	0,2469	0,9564	0,8028	0,6999	0,0557	0,6972

\*letras diferentes na coluna, considerando a categorização, diferem estatisticamente. Ca (cálcio), Mg (magnésio), PON1 (paraoxonase-1) e PPT (proteínas plasmáticas totais).

A hipocalcemia subclínica encontrada nos rebanhos leiteiros, pode ser explicada devido à maior demanda de cálcio nesse período, advinda da produção leiteira, porém neste estudo a hipocalcemia subclínica não afetou nos marcadores de imunidade do bezerro, podendo ser explicado por ser um rebanho de baixa produção. A hipocalcemia teve relação com as menores concentrações de magnésio na vaca, já que o magnésio tem papel importante na manutenção do equilíbrio do cálcio durante o período do parto, de modo que o aumento da ingestão de magnésio ajuda a prevenir a hipocalcemia (OETZEL et al, 2011).

No bezerro, o indicador de imunidade mais difundido para a eficiência da colostragem é a mensuração das proteínas plasmáticas totais (MACFARLANE et al, 2014, VILLARROEL et al, 2014). Tendo em vista as características placentárias dos bovinos, epitélio-corial, os anticorpos dos bezerros são advindos unicamente do colostro, já que não há circulação de imunoglobulinas transplacentária (SILPER et al., 2012). O valor dentro dos limites fisiológicos do ppt no presente estudo, foi possível devido aos cuidados no manejo dos bezerros, sendo oferecido o colostro logo após o nascimento, tendo em vista que a capacidade de absorção intestinal de anticorpos decresce após as primeiras horas de vida (OETZEL et al, 2015), além disso, a característica da propriedade, possuindo um rebanho de baixa produção, por sua vez tendo menor desafio imunológico.

A paraoxonase-1 nos bezerros teve maiores atividades nos bezerros oriundos das vacas primíparas, indicando maior sensibilidade desse marcador, sendo importante indicador imune, já que a maior atividade dessa enzima aumenta a resistência de macrófagos a estímulos pró-inflamatórios e a apoptose, possuindo impacto em suas características funcionais (AHARONI et al., 2012). A mensuração desse marcador inflamatório aumenta a capacidade de identificação de animais afetados, auxiliando na prevenção de futuras doenças (INGVARTSEN et al, 2003, TURK et al, 2005).

Apesar de baixa produção média do rebanho, as vacas múltiparas passam por um maior desafio metabólico, já que pela curva da produção de leite da lactação anterior, pois ainda está lactando e com o bezerro em fase de crescimento. Além da produção durante a lactação, outro parâmetro que pode aumentar o estresse oxidativo é o pico de lactação. A produção no pico de vacas múltiparas é superior à das primíparas, sendo definido como a produção máxima alcançada na lactação (GONÇALVES et al, 2002).

A PON1 indica imunossupressão, já que vacas e novilhas em período de transição tem o sistema imune afetado devido ao aumento na produção e secreção

fetal de corticosteroides durante o último mês de gestação, que por sua vez são necessários para desencadear o parto. A paraoxonase sérica, possui efeito antioxidante baseado na hidrólise de hidroperóxidos lipídicos gerados em lipoproteínas de baixa densidade durante eventos de estresse (MACKNESS et al, 2011) extensamente estudada na medicina humana, especialmente em relação a doenças caracterizadas com elevado estresse oxidativo, como doenças coronárias e dano hepático (MCELVEEN et al, 1986). Essa enzima pode ser relacionada com parâmetros lipídicos no pós-parto recente de vacas, sendo diminuída nesse período. Além disso a paraoxonase é reduzido mediante um estímulo inflamatório e por isso pode indicar contaminação bacteriana (CAMPOS et al, 2017). O desafio de vacas com LPS leva a uma diminuição severa da atividade desta enzima em apenas 6 horas após o contato com LPS (CAMPOS et al, 2017).

Considerando que quanto maior o tamanho do feto, mais energia a vaca gasta para mantê-lo e conseqüentemente maior o seu desafio metabólico, os resultados diminuídos acerca da paraoxonase-1 em bezerros machos no presente estudo podem indicar maior estresse oxidativo e contaminação bacteriana. Além disso, vacas com bezerros machos possuem maiores índices de distocia e endometrite (POTTER, 2010). A atividade da paraoxonase-1 é menor em vacas com metrite no pós-parto recente. A atividade de paraoxonase-1 é significativamente menor em bezerros doentes e a menor atividade da enzima pode ser atribuída a imaturidade hepática ou a diferenças no metabolismo lipídico. Ainda, bezerros são mais suscetíveis que vacas ao estresse oxidativo, inativando a paraoxonase-1 (GIORDANO et al, 2013). Como uma proteína inflamatórias negativa, essa enzima pode ser útil no diagnóstico de inflamação em bezerros recém-nascidos (CERON et al, 2014)

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Neste estudo a paraoxonase 1 foi mais sensível como marcador de imunidade, sugerindo que mesmo em rebanho de baixa produção, ocorre desafios na vida da vaca que podem influenciar na imunidade dos bezerros. Por isso, essa enzima pode ser de grande valia a detecção de afecções e déficit imunológico, sendo cada vez mais abrangida em diferentes fases e estados de desafio metabólico.

## **REFERÊNCIAS**

AHARONI S., AVIRAM M., FUHRMAN B. Paraoxonase 1 (PON1) reduces macrophage inflammatory responses. *Atherosclerosis*. 228: 353-361, 2013.

BROWNE R.W., KOURY S.T., MARION S., WILDING G., MUTI P., TREVISAN M. Accuracy and Biological Variation of Human Serum Paraoxonase 1 Activity and Polymorphism (Q192R) by Kinetic Enzyme Assay. *Clinical chemistry*. 53: 190-200.3, 2007.

CAMPOS F.T., RINCON J.A.A., ACOSTA D.A.V., SILVEIRA P.A.S., PRADIEÉ J., CORRÊA M.N., GASPERIN B.G., PFEIFER L.F.M., BARROS C.C., PEGORARO L.M.C., SCHNEIDER A. The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection

on serum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. *Theriogenology*. 89: 244-249, 2017.

CERON J.J., TECLES F., TVARIJONAVICIUTE A. Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. *Veterinary Research*. 10:74-80, 2014.

GIORDANO A., VERONESI M.C., ROSSI G., PEZZIA F., PROBO M., GIORI L., PALTRINIERI, S. Serum paraoxonase-1 activity in neonatal calves: Age related variations and comparison between healthy and sick animals. *The Veterinary Journal*, 197: 499–501, 2013. doi:10.1016/j.tvjl.2013.01.034

GONÇALVES T.M., OLIVEIRA A.I.G., FREITAS R.T.F., PEREIRA I.G. Curvas de Lactação em rebanhos da raça holandesa no estado de minas gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 31: 1689-1694, 2002.

KELLEY K.W., JOHNSON R.W., DANTZER R. Immunology discover physiology *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 43: 157–165. doi:10.1016/0165-2427(94)90132-5, 1994.

INGVARTSEN K.L., DEWHURST R.J., FRIGGENS N.C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that causes production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science*. 83: 277–308, 2003.

MACFARLANE J.A., GROVE-WHITE D.H., ROYAL M.D., SMITH R.F. Use of plasma samples to assess passive transfer in calves using refractometry: Comparison with serum and clinical cut-off point. *Vet. Rec.* 174: 303, 2014.

MACKNESS M. & MACKNESS B. Effect of dilution on high-density lipoprotein associated paraoxonase-1 activity. *Clinical Biochemistry*. 44:14-15, 2011.

MCELVEEN M., MACKNESS, J.M.I., COLLEY C.M., PEARD T., WARNER S., WALKER, C.H. Distribution of paraoxon hydrolysing activity in the serum of patients after myocardial infarction, *Clin. Chem.*, 32: 671-673, 1986.

OETZEL G.R. An update on hypocalcemia on dairy farms. *School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison*. 80-85, 2015 [Acesso 2019 abr 27].

OLIVEIRA M.A., REIS R.B., LADEIRA M.M., PEREIRA I.G., FRANCO G.L., SATURNINO H.M., COELHO S.G., ARTUNDUAGA M.A.T., FARIA B.N., SOUZA JÚNIOR J.A. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas com diferentes proporções de forragem e teores de lipídeos. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*. 59: 759-766, 2007.

POTTER T. J., GUITIAN J., FISHWICK J., GORDON P. J., SHELDON I. M. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, 74: 127–134, 2010.

SCHNEIDER A., CORRÊA M.N., BUTLER W.R. Short communication: acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. *Res Vet Sci*. 95: 269-71, 2013. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.02.010. Epub 2013 Mar 26.

SHAGHAYEGH A., SAKHA M., AZIMPOUR S., MOUSAKHANI F., FARHOODI M. Prevalence of subclinical hypocalcemia and its effects on milk somatic cell count, 10 days after parturition of cattle in a dairy farm. *Animal Science and Research Journal*. 6: 39-52, 2010.

SILPER, B.F. Avaliação da qualidade do colostro e transfêrencia de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*. 64: 281-285, 2012.

TURK R., JURETIC D., GERES D., TURK N., REKIC B., RUDOLF V.S., ROBIC M., SVETINA A. Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. *Research in Veterinary Science*. 79: 15-18, 2005.

VILLARROELA., MILLER T.B., WARD J.K., JOHNSON E.D., NOYES K.R. Differences in total protein concentration between fresh and frozen serum and plasma samples used to assess failure of passive transfer in dairy calves. *J. Adv. Dairy Res.* 2: 1-5, 2014.

WHIST A.C & ØSTERA S O. Associations between somatic cell counts at calving or prior to drying-off and clinical mastitis in the remaining or subsequent lactation. *Journal of Dairy Research*. 74: 66–73, 2007.

WILHELM A.L., MAQUIVAR M.G., BAS S., BRICK T.A., WEISS W.P., BOTHE H., VELEZ J.S., SCHUENEMANN J.M. Effect of serum calcium status at calving on survival, health, and performance of postpartum Holstein cows and calves under certified organic management. *Journal of Dairy Science*. 100: 3059-3067., 2017.