

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação**

**INFLUÊNCIA ETÁRIA E NUTRICIONAL NA HEMATOLOGIA DE  
BEZERROS DA RAÇA HOLANDESA**

**LEANDRO MENDES CAXITO**

**Belo Horizonte  
Escola de Veterinária - UFMG  
2013**

**Leandro Mendes Caxito**

**INFLUÊNCIA ETÁRIA E NUTRICIONAL NA HEMATOLOGIA DE BEZERROS  
DA RAÇA HOLANDESA**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da  
Universidade Federal de Minas Gerais como  
requisito parcial para obtenção do grau de Mestre  
em Ciência Animal.

Área de concentração: Clínica e Cirurgia  
Veterinárias

Orientador: Prof. Dr. Paulo Ricardo de Oliveira  
Paes

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária - UFMG  
2013

C384i

Caxito, Leandro Mendes, 1985-

Influência etária e nutricional na hematologia de bezerros da raça Holandesa / Leandro Mendes Caxito. – 2013.

104 p. : il.

Orientador: Paulo Ricardo de Oliveira Paes

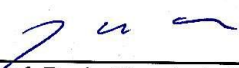
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

Inclui bibliografia

1. Holandês (Bovino) – Alimentação e rações – Teses. 2. Bezerro – Alimentação e rações – Teses. 3. Nutrição animal – Teses. 4. Hematologia veterinária – Teses. 5. Medula óssea – Teses. I. Paes, Paulo Ricardo de Oliveira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.089 615

Dissertação defendida e aprovada em 09 de janeiro de 2013, pela Comissão Examinadora constituída por:



---

Prof. Paulo Ricardo de Oliveira Paes  
Presidente



---

Prof. Claudio Roberto Scabelo Mattoso



---

Prof.<sup>a</sup>. Fabíola de Oliveira Paes Leme

*“A mais profunda raiz do fracasso em nossas vidas é pensar, 'Como sou inútil e fraco'. É essencial pensar poderosa e firmemente, 'Eu consigo', sem ostentação ou preocupação.”*

*Dalai Lama*

**Dedico...**

*“À minha querida avó Maria, aos meus pais e irmãos.”*

---

## AGRADECIMENTOS

---

À Deus.

Aos meus pais pela dedicação e incentivo diário, sem medir esforços. Aos meus irmãos pela amizade, companheirismo e confiança.

Aos meus tios e tias, primos e primas e cunhadas pelas conversas e distrações. Ao meu sobrinho, Iago, pela alegria que trouxe a todos da família.

À Luciele pela presença diária, amizade e carinho. Obrigado por me ter feito acreditar que “tudo iria dar certo”.

Aos meus *brothers* Pará, Gigolô, Milão, Bira, Bililiu, Bandido, Dany Boy, Fredão, Figueiró e Jefferson pela amizade verdadeira e pelas parcerias no futebol, truco, *poker*, sinuca e botecos da vida. Aos amigos Renan, Pedro e Diogo pelo companheirismo e força.

Aos professores, funcionários, colegas veterinários, amigos e amigas da PUC Betim.

Ao meu orientador, prof. Paulo Ricardo, pelo incentivo, paciência, colaboração e, principalmente, pelos ensinamentos.

À profa. Fabíola pela amizade, pelas dicas, conselhos, ajuda e por todo aprendizado.

Aos amigos mestres, Último e Lobão, pela amizade e por sempre transmitirem sabedoria quando estamos duvidosos. À profa. Sandra pela confiança e ajuda.

Às garotas do Laboratório de Patologia Clínica da UFMG, Renata, Joelma e Creuzinha pelas conversas e pelos momentos de distração. À minha amiga irmã, Carol, pelas brincadeiras e pelo “ombro amigo”, sempre me ouvindo quando precisei.

Às outras garotas do laboratório, Tina, Mari, Ana, Carla, Gaby, Fernanda, Pâmela e Carolzinha pela amizade. A todos os estagiários do bezerreiro pela ajuda e colaboração no andamento do projeto. Ao porteiro Fábio pelo incentivo e por ter se tornado um amigo.

Aos amigos Ruminantes José Zambrano, Jesus, Gugu, Tomé, Júlia, Dani, Ana Paula, Bruna, Juliana, Facury, Moisés, Marina, Helinho, Mãozinha, Marrento, Felipe, Carol, Marcela, Ronaldo, Emerson, Passon e Priscilla pelas conversas e troca de ensinamentos.

Aos amigos Cachorreiros Sílvia Trindade, Larissa, Nemo, Rural, Guilherme e Bernardo pelos momentos de entretenimentos. *Gracias!* Aos professores e todos os amigos que fiz na Venezuela.

À profa. Ângela, ao Danilo e Juliano pelos ensinamentos, colaboração, paciência e prontidão nas análises estatísticas.

À coordenação do colegiado de Pós-graduação da UFMG, prof. Roberto Guedes e às secretárias, Luzete e Débora, pela paciência e apoio.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPEMIG pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa. *Obrigado a todos!*

---

## SUMÁRIO

---

RESUMO.....	
ABSTRACT.....	
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
<b>2.1. Nutrição de bezerros.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2. Hematologia dos bovinos.....</b>	<b>21</b>
2.2.1. Hemácias.....	21
2.2.2. Hemoglobina.....	22
2.2.3. Índices hematimétricos.....	22
2.2.4. Leucócitos.....	23
2.2.5. Plaquetas.....	24
<b>2.3. Influência do fator etário.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4. Influência do fator nutricional.....</b>	<b>25</b>
<b>2.5. Medula óssea.....</b>	<b>26</b>
2.5.1. Coleta de medula óssea.....	27
2.5.2. Indicações e avaliação citológica da medula óssea.....	27
2.5.2.1. <i>Celularidade</i> .....	27
2.5.2.2. <i>Série megacariocítica</i> .....	28
2.5.2.3. <i>Relação mielóide:eritróide</i> .....	29
2.5.2.4. <i>Série eritróide</i> .....	30
2.5.2.5. <i>Série mielóide</i> .....	30
2.5.2.6. <i>Série monocítica</i> .....	31
2.5.2.7. <i>Linfócitos e plasmócitos</i> .....	32
<b>2.6. Cinética e resposta leucocitária nos bovinos.....</b>	<b>32</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1. Animais, instalação e manejo.....</b>	<b>34</b>
<b>3.2. Coleta de amostras e análises laboratoriais.....</b>	<b>37</b>
<b>3.3. Delineamento experimental.....</b>	<b>39</b>
<b>3.4. Análise estatística.....</b>	<b>39</b>
<b>Artigo 1 - Avaliação citológica de medula óssea de bezerros machos da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.....</b>	<b>42</b>
RESUMO.....	42
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAL E MÉTODOS.....	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
CONCLUSÕES.....	54



REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	55
<b>Artigo 2 - Perfil hematológico de bezerros machos da raça Holandesa: influência dos fatores etário e nutricional.....</b>	<b>57</b>
RESUMO.....	57
ABSTRACT.....	57
INTRODUÇÃO.....	58
MATERIAL E MÉTODOS.....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	77
<b>Apêndices.....</b>	<b>79</b>
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>99</b>

---

## LISTA DE TABELAS

---

### Material e Métodos

Tabela 1.	Níveis de garantia do leite sucedâneo.....	36
Tabela 2.	Composição nutricional dos alimentos fornecidos.....	36

### Artigo 1 - Avaliação citológica de medula óssea de bezerros machos da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade

Tabela 1.	Valores dos hemogramas de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade provenientes da região de Belo Horizonte/MG.....	46
Tabela 2.	Porcentagens médias e desvios padrão da celularidade, concentração de megacariócitos e da relação mielóide:eritróide na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.....	48
Tabela 3.	Porcentagens médias e desvios padrão das células da série eritróide na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.....	50
Tabela 4.	Porcentagens médias e desvios padrão da série mielóide na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.....	52
Tabela 5.	Porcentagens médias e desvios padrão das células da série monocítica e linfocítica na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.....	53

### Artigo 2 - Perfil hematológico de bezerros machos da raça Holandesa: influência dos fatores etário e nutricional

Tabela 1.	Valores das médias e desvios padrão da contagem de hemácias ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	61
Tabela 2.	Valores das médias e desvios padrão da concentração de hemoglobina (g/dL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	61
Tabela 3.	Valores das médias e desvios padrão do volume globular (%) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	62
Tabela 4.	Valores das médias e desvios padrão do Volume Corpuscular Médio (fL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	65
Tabela 5.	Valores das médias e desvios padrão da Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	67

Tabela 6.	Valores das médias e desvios padrão da Amplitude de Variação do Volume Celular - RDW (%) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	68
Tabela 7.	Valores das médias e desvios padrão de leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	69
Tabela 8.	Valores das médias e desvios padrão de neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	70
Tabela 9.	Valores das médias e desvios padrão de linfócitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	70
Tabela 10.	Valores das médias e desvios padrão da relação neutrófilo:linfócito (N:L) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	73
Tabela 11.	Valores das médias e desvios padrão de plaquetas totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.....	75

---

## LISTA DE FIGURAS

---

### Revisão de Literatura

Figura 1.	Desenho esquemático do desenvolvimento do megacariócito.....	29
Figura 2.	Desenho esquemático do processo de desenvolvimento das células da série eritróide.....	30
Figura 3.	Desenho esquemático do processo de desenvolvimento das células da série mielóide.....	31

### **Artigo 2 - Perfil hematológico de bezerros machos da raça Holandesa: influência dos fatores etário e nutricional**

Figura 1.	Análise de regressão e coeficiente de determinação do Volume Corpuscular Médio (fL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade.....	65
Figura 2.	Análise de regressão e coeficiente de determinação da Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade.....	67
Figura 3.	Análise de regressão e coeficiente de determinação de linfócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco a 90 dias de idade.....	71

---

## LISTA DE QUADROS

---

Quadro 1.	Grupos envolvidos no Experimento I e suas descrições.....	35
Quadro 2.	Grupos envolvidos no Experimento II e suas descrições.....	35

---

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

°C – graus Celsius  
µm – micrometros  
mm – milímetros  
cm – centímetros  
m – metros  
m<sup>2</sup> – metros quadrados  
km – quilômetros  
µl – microlitros  
ml – mililitros  
fL – fentolitros  
pg – picogramas  
mg – miligramas  
g – gramas  
mg/kg – miligramas por quilo  
kg/dia – quilos por dia  
mg/dL – miligramas por decilitro  
g/dL – gramas por decilitro  
L/dia – litros/dia  
rpm – rotações por minuto  
U.I. – Unidades Internacionais  
IV – intravenoso  
NaCl – cloreto de sódio  
NaHCO<sub>3</sub> – bicarbonato de sódio  
KCl – cloreto de potássio  
VCM – Volume Corpuscular Médio  
CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média  
HCM – Hemoglobina Corpuscular Média  
RDW – *Red Cell Distribution Width* (amplitude de variação do volume celular)  
IL – interleucina  
pH – potencial hidrogeniônico  
Epo – eritropoetina  
EDTA – ácido etilenodiaminotetracético  
UFC Er – Unidade Formadora de Colônia da Série Eritróide  
UFC GM – Unidade Formadora de Colônia da Série Mielóide  
UFC Mg – Unidade Formadora de Colônia de megacariócitos  
PPT – proteína plasmática total  
PPT:F – relação proteína plasmática total:fibrinogênio  
N:L – relação neutrófilo:linfócito  
M:E – relação mielóide:eritróide  
IL - interleucina  
C5a – fator complemento  
TNF-α – fator de necrose tumoral

---

## LISTA DE APÊNDICES

---

Apêndice 1.	Bezezeiro tipo argentino (local do experimento – Escola de Veterinária da UFMG).....	79
-------------	--	----

### **Artigo 1 - Avaliação citológica de medula óssea de bezerros machos da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade**

Apêndice 2.	Valores individuais dos hemogramas dos bezerros de 30 dias de idade.....	80
Apêndice 3.	Valores individuais de celularidade, megacariócitos, relação mielóide:eritróide (M:E) e das células da série eritróide na medula óssea dos bezerros de 30 dias de idade.....	81
Apêndice 4.	Valores individuais de células da série mielóide, série monocítica, linfócitos e plasmócitos na medula óssea dos bezerros de 30 dias de idade.....	82
Apêndice 5.	Valores individuais dos hemogramas dos bezerros de 60 dias de idade.....	83
Apêndice 6.	Valores individuais de celularidade, megacariócitos, relação mielóide:eritróide e das células da série eritróide na medula óssea dos bezerros de 60 dias de idade.....	84
Apêndice 7.	Valores individuais de células da série mielóide, série monocítica, linfócitos e plasmócitos na medula óssea dos bezerros de 60 dias de idade.....	85
Apêndice 8.	Valores individuais dos hemogramas dos bezerros de 90 dias de idade.....	86
Apêndice 9.	Valores individuais de celularidade, megacariócitos, relação mielóide:eritróide e das células da série eritróide na medula óssea dos bezerros de 90 dias de idade.....	87
Apêndice 10.	Valores individuais de células da série mielóide, série monocítica, linfócitos e plasmócitos na medula óssea dos bezerros de 90 dias de idade.....	88

### **Artigo 2 - Perfil hematológico de bezerros machos da raça Holandesa: influência dos fatores etário e nutricional**

Apêndice 11.	Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo C4/4.....	89
Apêndice 12.	Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo C6/4.....	90
Apêndice 13.	Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo C6/6.....	91
Apêndice 14.	Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo MF4/4.....	92
Apêndice 15.	Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo MG4/4.....	93
Apêndice 16.	Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo C4/4.....	94
Apêndice 17.	Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo C6/4.....	95
Apêndice 18.	Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo C6/6.....	96
Apêndice 19.	Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo MF4/4.....	97

Apêndice 20. Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo MG4/4.....	98
--	----



## RESUMO

Os maiores desafios na bovinocultura são o manejo e a criação de bezerros. Além disso, a adaptabilidade do bezerro ao meio externo e ao consumo de alimentos, tornam esses desafios ainda maiores. A alimentação representa 50 a 60% dos custos de produção, sendo fundamental para o desenvolvimento dos animais. São raros os estudos abordando a influência do aspecto nutricional na composição sanguínea de bovinos jovens e a evolução citológica da medula óssea com o desenvolvimento etário. O presente projeto de pesquisa foi dividido em dois experimentos e teve como objetivos avaliar a citologia de medula óssea nos primeiros três meses de vida (Experimento I) e estudar a influência dos fatores etário e nutricional sobre o perfil hematológico em bezerros (Experimento II). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso. A técnica de coleta da medula óssea realizada no experimento permitiu a avaliação das concentrações celular e de megacariócitos. Houve aumento da concentração de megacariócitos e de células precursoras eritróides na medula óssea acompanhada de elevação na contagem de plaquetas e da concentração de hemácias no sangue periférico, respectivamente. O eritrograma e leucograma variaram mais em função do fator etário, com alterações nos índices hematimétricos, nas contagens de leucócitos totais e de linfócitos. Conclui-se com o presente trabalho que há alterações significativas nas contagens de células tanto na medula óssea quanto no sangue periférico. O tipo de manejo e o desafio enfrentado pelos bezerros não permitiu uma conclusão precisa da influência do fator nutricional sobre o sangue periférico.

Palavras-chave: bezerro, gado Holandes, hematologia, medula óssea, nutrição.

## ABSTRACT

*The biggest challenges in livestock is the management and calf rearing. Furthermore, the adaptability of calf to the external environment and food intake even greater challenges. The food represents 50 to 60% of production costs, being underlying to the development of animals. There are few studies addressing the influence of nutritional factor in blood composition of young cattle and the bone marrow evaluation with the development of age. This research project was divided into two experiments and aimed evaluate the bone marrow citology in the first three months of life (Experiment I) and study the influence of age and nutritional factors into hematologic profile in calves (Experiment II). The experimental design was completely randomized. The technique collects of bone marrow performed the experiment allowed the evaluation of cell and megakaryocytes concentrations. There was a increasing in megakaryocytes and erythroid precursor cells concentrations in the bone marrow accompanied by rise in platelet count and concentration of red blood cells in the peripheral blood, respectively. The erythrogram and leukogram more varied with the age factor with alterations in erythrocyte index, white blood cells and total lymphocytes counts. We conclude with this work that there are significant changes in cell counts of bone marrow and peripheral blood. The type of management and challenges face for the calves did not allow a precise conclusion of the influence of nutritional factor on the blood.*

*Keywords: calves, Holstein cattle, hematology, bone marrow, nutrition.*

## 1. INTRODUÇÃO

O período neonatal dos animais é marcado por rápidas mudanças no quadro hematológico. Com o desenvolvimento da hematologia veterinária, pesquisadores já demonstraram que fatores de variabilidade primários influenciam os constituintes sanguíneos de várias espécies (Jain, 1986; Kaneko, 1997; Galindo et al., 2009; Reginfo et al., 2010; Benesi et al., 2012). Nos bovinos, as condições ambientais, tipo de criação, qualidade do alimento, variações estacionais, estresse do manejo, raça, sexo, idade e condições patológicas, podem alterar significativamente os resultados laboratoriais (Obba, 1991; Birgel Jr, 1993; Fagliari et al., 1998).

Além do hemograma, a avaliação citológica da medula óssea ajuda no reconhecimento de anormalidades hematológicas que não são explicáveis pelo histórico, exame físico, perfil bioquímico e outros procedimentos (Cowell et al, 2009). No entanto, o reconhecimento dos valores de normalidade para diferenças raças, faixas etárias e de dados regionalizados é necessário para minimizar as variações nos resultados. (Marçal, 1989; Diitrich et al., 1996; Mohri et al., 2007).

A realização de exames e a interpretação de dados laboratoriais dos ruminantes podem ser uma extensão importante do exame físico, pois auxiliam na determinação da etiologia,

fornecendo informações que norteiam a abordagem terapêutica e o prognóstico do animal. A habilidade em interpretá-los é baseada no conhecimento sobre os mecanismos fisiológicos normais e com o que ocorre quando o animal apresenta uma enfermidade (Jones e Allison, 2007; Mohri et al., 2007).

A maioria dos estudos já realizados verifica a interação entre os componentes sanguíneos e suas alterações em relação aos fatores intrínsecos e extrínsecos, observando uma escassez de informações a respeito da nutrição. A alimentação adequada dos bovinos, por ser fundamental para o desenvolvimento dos animais e representar 50 a 60% dos custos de produção, é um dos maiores desafios da pecuária leiteira e de carne (Davis e Drackley, 1998). O manejo alimentar afeta tanto o crescimento quanto a saúde dos bezerros. O perfil proteico também pode colaborar no estudo do balanço nutricional no qual, alguns distúrbios, podem influenciar nas concentrações sanguíneas de metabólitos como albumina e hemoglobina (Contreras, 2000).

O presente trabalho foi dividido em dois experimentos, subdivididos em três artigos, e teve como objetivos avaliar a evolução citológica de medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade e estudar a influência dos fatores etário e nutricional sobre o perfil hematológico e proteico ao longo dos três primeiros meses de vida.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Nutrição de bezerros

A criação de bezerros, principalmente do nascimento ao desaleitamento, exige boas práticas de manejo e nutrição, fatores estes que interferem na saúde e no crescimento. Um dos aspectos críticos na nutrição dos bezerros é o fornecimento da dieta líquida e sólida para o desenvolvimento do rumen. A alimentação representa de 50 a 60% dos custos da produção sendo, dessa forma, um componente que assume importância fundamental, principalmente quando se prioriza eficiência (Gonçalves et al., 2009).

Historicamente tem-se fornecido quantidade restrita de leite aos bezerros numa tentativa de aumentar o consumo de ração concentrada e adiantar a desmama (Drackley, 2011). Além disso, existem crenças de que o aumento da ingestão de leite provocaria um aumento na incidência da diarreia. Portanto, o que se tem praticado nas propriedades é o fornecimento diário de 4 litros de leite. Porém, esta quantidade é bem inferior ao que o animal ingeriria *ad libitum*, chegando a 16 a 24% do peso vivo, o que corresponde em torno de 6 a 8 litros de leite por dia (Jasper e Weary, 2002; Drackley, 2011). Drackley (2008) afirma que, em condições termoneutras (15 a 25°C), dos 4 litros diários fornecidos na prática, 2,6 litros (65%) são utilizados para manutenção e apenas 1,4 litros (35%) para ganho de peso. Com a utilização de sucedâneo, o ganho de peso ainda é menor, sendo 3 litros diários de leite (75%) utilizados para manutenção.

No Brasil, ainda é comum o fornecimento de leite em pequena quantidade. Lucci (1989) afirma que a quantidade de leite ideal estaria entre 8 a 10% do peso vivo e que, o desaleitamento entre a quinta e oitava semana de vida, estimularia o consumo precoce de alimentos sólidos e conseqüentemente o ganho de peso. O consumo de concentrado, no entanto, é muito pequeno nas primeiras duas semanas, independente da quantidade de leite ou sucedâneo disponível (Sweeney et al., 2010). Segundo Van Amburgh et al. (2003), apenas após o primeiro mês de idade os bezerros são capazes de ingerir alimentos sólidos em quantidade suficiente para suprir a demanda de energia metabólica. Para Drackley (2008), a obtenção de consumo de concentrado precocemente é um fator chave limitante no que se refere à nutrição de bezerros, sendo fundamental que o concentrado seja palatável e tenha boa aceitabilidade pelos animais.

Portanto, a quantidade de leite fornecida aos animais pode afetar sua fisiologia, imunologia e comportamento, conseqüentemente influenciando a ingestão da ração, seu crescimento, desenvolvimento e produtividade futura (Khan et al., 2007). A forma física da ração pode ser um fator que interfira no desenvolvimento ruminal e, a quantidade de leite, no desenvolvimento do animal como um todo (Bittar et al., 2009). Muito se tem discutido com relação à granulometria da ração, já que o tamanho da partícula pode afetar o ambiente ruminal. Muitos pesquisadores afirmam que partículas maiores

estimulam o aumento da estrutura das papilas ruminas, além de favorecerem suas funções, facilitando a digestão bacteriana (Coverdale et al., 2004). Já o fornecimento de leite em grandes quantidades resulta em menor consumo de concentrado e consequentemente pode estar relacionado ao menor desenvolvimento ruminal durante a fase de aleitamento (Jasper e Weary, 2002; De Passillé et al., 2008). Kristensen et al. (2007) observaram melhor desenvolvimento das papilas em bezerros que receberam menor quantidade de sucedâneo de leite, mas não houve alterações no ambiente ruminal. O aleitamento com maior volume de leite por dia é muitas vezes associado a aumento na incidência de diarreias, porém, quanto à incidência de outras patologias, como as doenças respiratórias, é possível que haja redução, uma vez que o melhor *status* energético do animal leva a maior capacidade de resposta imune (Woodward, 1998).

## **2.2. Hematologia dos bovinos**

O sangue é o meio através do qual o organismo transporta as substâncias e os elementos necessários à vida, sendo formado por três tipos celulares: hemácias, leucócitos e plaquetas. O exame hematológico é a maneira mais fácil de se obter informações valiosas sobre a saúde do animal (Garcia-Navarro, 2005).

Este exame pode ser realizado por várias razões, incluindo um simples procedimento de acompanhamento para avaliar a saúde geral, como um adjuvante para a avaliação do paciente

em determinado momento específico, para avaliar a capacidade do corpo em combater determinada infecção, para avaliar o progresso de certos estados de doença e até mesmo para confirmar um diagnóstico (Jain, 1993).

Um hemograma simples pode estar adequado ao exame físico geral, mas hemogramas sequenciais são preferenciais para acompanhar a recuperação do estado da doença. Um exame de sangue também pode fornecer pistas sobre a necessidade de realizar exame da medula óssea e de outros exames laboratoriais, como o perfil bioquímico (Cowell et al., 2009).

### **2.2.1. Hemácias**

Este tipo celular nos bovinos, assim como de todos os mamíferos, é anucleado e geralmente possui a forma de disco bicôncavo com pouca palidez central, diferenciando-os das demais espécies em relação a não formação de *rouleaux* e ao tamanho da célula (Jain, 1993). A vida média da hemácia bovina pode variar entre 70 e 120 dias nos animais jovens e pode chegar a 160 dias no animal adulto (Kaneko, 1970). No animal saudável, não são encontrados reticulócitos ou hemácias nucleadas na circulação periférica. Nos quadros anêmicos regenerativos, os pontilhados basofílicos, formados pela agregação de ribossomos na forma de pequenos grânulos basofílicos, estão associados com hemácias imaturas, característico desta espécie (Thrall et al., 2007).

Em geral, os valores hematológicos são mais significativamente influenciados pela idade, e menos pela raça e sexo.

Outros fatores como excitação, medo, perturbação emocional e exercícios extenuantes também podem provocar uma alteração fisiológica nos parâmetros sanguíneos. Isso ocorre devido à contração esplênica e aumento do estímulo da passagem das hemácias e plaquetas do compartimento de armazenamento para o circulante, aumentando a concentração no sangue periférico (Jain, 1993).

### 2.2.2. Hemoglobina

A hemoglobina dos ruminantes já era de interesse nas pesquisas a muitos anos atrás, especialmente devido ao polimorfismo que ocorre entre espécies, raças e idade, diferenciando-se a partir do embrião até o animal adulto (Jain et al., 2000). Acredita-se que bovinos neonatos possuem uma mistura de hemoglobina fetal, formada por duas  $\alpha$ -globulinas e duas  $\beta$ F-globulinas com hemoglobina do adulto, formada por duas  $\alpha$ -globulinas e duas  $\beta$ A-globulinas que, alguns meses após o nascimento, passam a predominar nas hemácias (Jain, 1986; Stockham e Scott, 2011). Ao nascimento, a hemoglobina F (H $\beta$ F) constitui cerca de 60 a 90% da hemoglobina total, diminuindo com o avançar da idade e desaparecendo totalmente a partir do 2º mês de vida, permanecendo somente a hemoglobina A (H $\beta$ A) (Jain, 1986). Além da idade, sabe-se que alimentação tem influência sobre a concentração sanguínea de hemoglobina, sendo que quando existem deficiências de proteínas na ração, observa-se uma diminuição na sua concentração (Contreras, 2000).

### 2.2.3. Índices hematimétricos

O tamanho das hemácias dos bovinos varia entre 4 – 8  $\mu$ m de diâmetro, com média de 5,8  $\mu$ m, podendo ser observado uma discreta à moderada anisocitose no sangue normal da espécie (Jain, 1993). No bovino adulto, os valores do volume celular médio (VCM), da concentração de hemoglobina celular média (CHCM) e da hemoglobina corpuscular média (HCM) variam entre 40 a 60 fL, 30 a 36 g/dl e 11 a 17 pg, respectivamente. Porém, para estarem dentro do intervalo de referência, estes índices hematimétricos são dependentes da contagem de hemácias, da concentração de hemoglobina e do volume globular que, no caso dos bovinos, variam entre 5 – 10 x 10<sup>6</sup>/ $\mu$ l, 8 – 15 g/dl e 24 – 46%, respectivamente (Jain, 1993; Thrall et al., 2007).

Quando um bezerro nasce, o tamanho do eritrócito tende a ser maior e a concentração de hemoglobina média menor, caracterizando um VCM maior e um CHCM menor quando comparado aos dos animais adultos (Jain, 1993). Na maioria das amostras sanguíneas, nem todas as hemácias são iguais, ou seja, possuem diferentes tamanhos, volumes e concentrações de hemoglobina em seu interior. Com isso, o RDW (do inglês – *Red Cell Distribution Width*) irá refletir a amplitude de variação do volume celular, determinando o grau de anisocitose presente em determinada amostra que, no caso da espécie bovina, varia entre 17 e 21% (Jain, 1993; Stockham e Scott, 2011).

#### 2.2.4. Leucócitos

A resposta leucocitária nos ruminantes frequentemente difere das observadas em outras espécies. O leucograma é influenciado por diversos fatores como a idade, estado gestacional, raça, atividade muscular, excitação, nutrição, estresse ou determinado estado patológico (Andresen, 1970; Jain, 1986; Cole et al., 1997; Taylor, 2000; Ohtsuka et al., 2005).

Em geral, um leucograma anormal permite a identificação de processos patológicos, como por exemplo, a inflamação, mas não permite a definição de um diagnóstico específico. No entanto, as interpretações das anormalidades leucocitárias e dos achados clínicos podem, muitas vezes, levar a um diagnóstico (Thrall et al., 2007). Quando se trata de bezerros neonatos, os desafios enfrentados por estes, especialmente no primeiro mês de vida, podem causar alterações hematológicas devido à infecção ou inflamação. Além disso, após o nascimento, o bezerro passa por várias mudanças fisiológicas, adaptando-o à vida extrauterina (Radostits et al., 2002; Jones e Allison, 2007). Segundo Jain (1986), os níveis de cortisol no neonato são elevados e diminuem progressivamente somente a partir do 11º a 20º dia de vida, podendo ser observado alterações fisiológicas como leucocitose por neutrofilia. Somado a isto, mesmo tendo recebido uma adequada colostragem, o estresse do manejo, a presença de microorganismos ambientais e a cura inadequada do umbigo podem fazer com que o animal não se apresente clinicamente enfermo,

porém a resposta inflamatória é característica.

Quando comparado às outras espécies, os bovinos respondem menos dramaticamente ao estresse ou à doença. A quantidade de leucócitos circulantes em animais sadios pode variar entre 4,0 a 12,0 x 10<sup>3</sup> células/μl. Nas primeiras semanas de vida, o leucócito predominante é o neutrófilo sendo que, já a partir da segunda semana, os linfócitos aparecem em maior quantidade (Jain et al., 2000). Sendo assim, com o avançar da idade, os linfócitos passam a predominar na circulação, podendo constituir entre 70 a 80% da contagem diferencial dos leucócitos. O aumento na circulação, caracterizado como linfocitose, podem ocorrer nas infecções virais. Ao contrário, a linfopenia é mais comumente observada nos casos de estresse (Scott e Stockham, 2011). O neutrófilo segmentado maduro é a segunda célula predominante na circulação dos bovinos adultos. Já os neutrófilos bastonetes, metamielócitos e mielócitos são de ocorrência rara nesta espécie. A leucocitose por neutrofilia pode ocorrer em infecções graves como peritonite, mastite e metrites em bovinos adultos (Jain et al., 2000) e em inflamações umbilicais (Radostits et al., 2002), estresse do manejo e da desmama (Paes et al., 2012) nos bezerros. Os eosinófilos são de ocorrência relativamente comum na espécie, podendo aumentar na circulação sanguínea, principalmente em enfermidades parasitárias. Os grânulos róseos ocupam praticamente todo o citoplasma, podendo até cobrir uma parte do núcleo. Já os basófilos são

de ocorrência rara, porém mais comum quando comparado às outras espécies, sendo as basofílias observadas junto ao aumento de eosinófilos (Scott e Stockham, 2011). Os grânulos azurofílicos ocupam grande parte do citoplasma, dando uma característica de “borrões” na célula (Jain et al., 2000). Os monócitos podem variar consideravelmente seu tamanho, sendo considerados os maiores leucócitos circulantes. Têm a característica de possuir um núcleo “frouxo” e citoplasma com vacuolizações. Este tipo celular tende a diminuir na fase aguda do processo inflamatório, aumentando sua concentração quando a doença se torna crônica (Jain, 1986).

### **2.2.5. Plaquetas**

Estes elementos são caracterizados como pequenos fragmentos citoplasmáticos de megacariócitos, que por sua vez são derivados de células-tronco hematopoiéticas pluripotentes na medula óssea (Stockham e Scott, 2011). As plaquetas dos bovinos, assim como a maioria das espécies, são pequenas, porém podem aparecer formas gigantes, semelhantes ao tamanho das hemácias. O tempo médio de vida no animal normal é por volta de 10 dias (Jain, 1993).

O processo de produção das plaquetas na corrente sanguínea ocorre em decorrência da megacariopoiese e trombopoiese, sendo eficiente quando o número de megacariócitos na medula óssea é adequado (Stockham e Scott, 2011). A quantidade normal pode variar entre 100 a 800 x 10<sup>3</sup> plaquetas/ $\mu$ l. São várias as condições

para a ocorrência de diminuição ou aumento das plaquetas circulantes. A trombocitopenia pode ser verificada em casos de ingestão de substâncias tóxicas, hemorragias, endotoxemias, vírus da diarreia viral bovina, dentre outros. Os animais com trombocitopenia não apresentam hemorragia espontânea até que a contagem seja inferior ou igual a 10 a 50 x 10<sup>3</sup> células/ $\mu$ l (Thrall, 2007; Stockham e Scott, 2011). Já a trombocitose pode ser vista em fatores ocasionados pelo estresse, inflamações por infecção ou trauma, dentre várias outras, podendo superar 1000 x 10<sup>3</sup> plaquetas/ $\mu$ l (Stockham e Scott, 2011). A função primária das plaquetas é a manutenção da hemostasia por meio da interação com as células endoteliais, mantendo a integridade vascular. Adesão, agregação e degranulação plaquetária são eventos que podem ocorrer simultaneamente ou independentemente, dependendo das condições de estímulos e circunstâncias (Santos, 2008).

### **2.3. Influência do fator etário**

A idade é um fator importante a ser considerado para interpretação do hemograma, especialmente quanto ao hematócrito, leucograma e proteinograma, que, em geral, são influenciados pela absorção do colostro. De certo modo, os parâmetros hematológicos para os bovinos geralmente são baseadas nas amostras obtidas de animais adultos e não podem condizer caso sejam utilizados para caracterizar valores para bezerros (Brun-Hansen et al., 2006). Nos parâmetros hematimétricos sabe-se que



há uma relação fisiológica entre as mudanças de seus valores com o desenvolvimento etário do animal. As hemácias dos bezerros neonatos são maiores, o que caracteriza um volume corpuscular médio (VCM) maior quando comparados aos de animais mais velhos. O tamanho médio da hemácia fetal durante a gestação varia de 90 a 100 fL, diminuindo para menos da metade no momento do nascimento (Jain, 1986). O tamanho do eritrócito continua diminuindo durante os primeiros três a quatro meses de vida. Esta diminuição gradativa do VCM reflete a substituição de hemácias contendo hemoglobina F (hemoglobina fetal), por hemácias menores contendo hemoglobina tipo A (Lee et al. 1971; Jain, 1986; Knowles et al. 2000). Em relação aos leucócitos, a concentração de neutrófilos e linfócitos possui influência direta do fator etário no qual, especificamente para a espécie bovina, a contagem de neutrófilos circulantes nos primeiros meses é superior a dos linfócitos, invertendo a relação com o avançar da idade (Jain, 1993; Jones e Allison, 2007; Rocha et al., 2007; Mohri et al., 2007). Para concentração proteica plasmática, conforme o animal se torna mais velho, a queda dos níveis, após o pico de concentração, reflete o catabolismo proteico das imunoglobulinas que foram adquiridas passivamente do colostro materno (Tennant et al., 1969; Husband et al., 1972; Ribeiro et al., 1983; Machado Neto et al., 1989). Da mesma maneira, a estabilização da concentração da proteína total reflete a produção endógena das imunoglobulinas pelo bezerro (Husband et al., 1972), fazendo com que ocorra diminuição fisiológica

da concentração de globulina e elevação de albumina, esta causada pelo aumento da ingestão de compostos nitrogenados na dieta e pelo aumento da síntese hepática (Kaneko, 1997; Stockham e Scott, 2011).

#### **2.4. Influência do fator nutricional**

O fornecimento de maior quantidade de leite é associado, sem comprovação científica, à maior incidência de diarreias. O período de aleitamento representa, no entanto, uma oportunidade de alto ganho de peso, que além de garantir bom desenvolvimento e saúde pode reduzir a idade ao primeiro parto. Quanto mais bem alimentado, maior é a integridade do sistema imunológico e com isso as respostas contra as doenças se tornam melhores (Davis e Drackley, 1998). Em relação à ingestão do concentrado, muito se tem discutido sobre a granulometria da ração e sua influência no desenvolvimento ruminal. Entretanto, dietas com alta concentração de amido rapidamente fermentável e redução do tamanho de partículas tendem a reduzir rapidamente o pH e comprometer não apenas a microbiota como o próprio epitélio ruminal (Church, 1988). De acordo com Davis e Drackley (1998), as mudanças mais significativas de pH ruminal ocorrem quando os animais começam a ingerir quantidades maiores de dieta sólida, favorecendo a ocorrência de acidose ruminal subclínica e levando a alterações hematológicas, como a hiperfibrinogenemia. Porém, são poucas as pesquisas relacionando o manejo alimentar com o perfil hematológico destes animais, tornando necessário um

estudo mais aprofundado, a fim de estabelecer a melhor estratégia nutricional para essa faixa etária da criação.

## 2.5. Medula óssea

A medula óssea tem como principal função a hematopoiese de células megacariocíticas, eritróides, granulocíticas, monocíticas e linfocitárias. Nos animais em crescimento, a hematopoiese ocorre no interior dos ossos longos e chatos. Com o desenvolvimento etário, a região do canal medular é substituída por tecido adiposo, tornando a medula ativa nos locais esponjosos, como epífises e metáfises ósseas (Raskin, 1996).

A produção de células sanguíneas ocorre na medula óssea dos animais adultos, onde o microambiente é único e propício ao seu desenvolvimento. Este microambiente hematopoiético constitui uma complexa rede de variadas células estromais, células acessórias, fatores de crescimento de glicoproteína e componentes da matriz extracelular, que afetam profundamente a sobrevivência, proliferação e diferenciação da célula estaminal hematopoiética e célula progenitora (Harvey, 2001). A produção de células hematopoiéticas ocorre intra e extramedularmente. Em animais jovens, a hematopoiese intramedular ocorre na maior parte dos ossos do seu corpo e a extramedular ocorre primariamente no fígado, baço e nódulos linfáticos (Morrison, 2005). A medula óssea ativa (medula vermelha) participa na formação e liberação de várias linhagens de células sanguíneas, armazenamento e reciclagem do ferro, fagocitose de restos celulares e

produção de anticorpos, sendo composta por células das séries eritróide, mielocítica, monocítica e trombocítica, além de adipócitos (gordura) e alguns macrófagos, linfócitos, plasmócitos e mastócitos, delimitadas pelo endotélio que reveste os sinusóides (Thrall et al. 2007; Cowell et al. 2009). Quando há predomínio de tecido hematopoiético, como em animais jovens, a medula possui uma aparência vermelha, diferente daquela vista em animais adultos ou mais velhos em que há substituição por tecido adiposo, dando à ela uma aparência amarelada. Porém, a medula amarela pode se transformar em medula vermelha durante processos patológicos capazes de estimular a eritropoiese (Stockham e Scott, 2011).

No espaço extravascular, a produção de células pela medula óssea envolve um processo complexo de proliferação e diferenciação das células progenitoras pluripotentes. Todas as células sanguíneas da medula óssea surgem de uma célula estaminal comum (Morrison, 1998). Esta célula estaminal pluripotencial origina as linhas celulares linfóides e mielóides, isto é, origina diferentes fases de células progenitoras, que, posteriormente se diferenciam em células da série eritrocítica, granulocítica, megacariocítica, além dos linfócitos e monócitos (Raskin, 1996; Morrison, 1998). O resultado final deste processo é a liberação de hemácias, leucócitos e plaquetas na corrente sanguínea (Reagan e DeNicola, 1998).

### **2.5.1. Coleta de medula óssea**

A coleta é normalmente realizada através de punção aspirativa com a utilização de agulha específica (Thrall et al., 2007). Os sítios de coletas mais comumente utilizados na medicina veterinária são o úmero proximal, a crista ilíaca, fossa trocantérica do fêmur e do esterno (Harvey, 2001). Ocasionalmente, coleta-se amostra de medula óssea de animais mortos, havendo uma necessidade de obtenção das amostras e das lâminas imediatamente antes de 30 minutos após o óbito. Independente de o animal estar vivo ou morto, as preparações citológicas da medula óssea devem ser feitas imediatamente após a coleta, evitando alterações na morfologia celular (Cowell et al., 2009). A amostra de medula óssea pode ser cuidadosamente espalhada na superfície de uma lâmina de vidro, secada e corada para a realização do exame citológico (Thrall et al., 2007).

### **2.5.2. Indicações e avaliação citológica da medula óssea**

Normalmente cerca de 50% da medula vermelha consiste em células nucleadas e 50% medula amarela, correspondente à gordura (Grindem et al., 2002). Quando há predomínio de tecido hematopoiético, como em animais jovens, a medula possui uma aparência vermelha, diferente daquela vista em animais adultos ou mais velhos em que há substituição por tecido adiposo, dando a ela uma aparência amarelada. Porém, a medula amarela pode se transformar em medula vermelha durante processos patológicos capazes

de estimular a eritropoiese (Stockham e Scott, 2011). São várias as indicações para se realizar um exame de medula óssea, incluindo anemias não responsivas, neutropenias persistentes, trombocitopenias desconhecidas, pancitopenias, hiperproteinemias inexplicáveis causadas secundariamente por parasitos, desordens linfoproliferativas, dentre outras (Jain, 1993, Harvey 2001).

#### ***2.5.2.1. Celularidade***

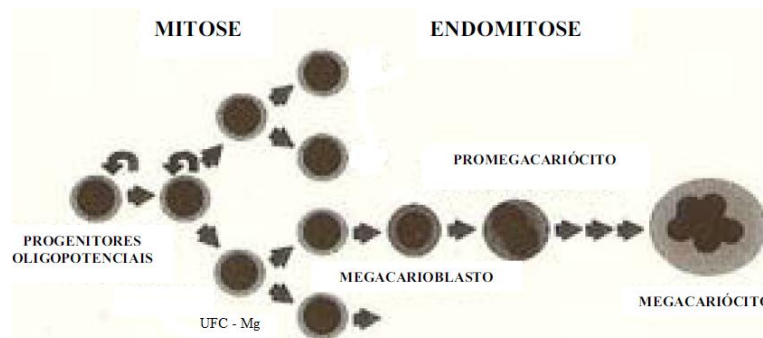
A avaliação citológica da medula óssea deve ser realizada conforme informações do histórico, exame físico, sinais clínicos e achados laboratoriais, incluindo a coleta de sangue periférico para análise junto ao mielograma (Cowell et al., 2009). São várias as indicações para se realizar um exame de medula óssea, incluindo anemias não responsivas, neutropenias persistentes, trombocitopenias de causas desconhecidas, pancitopenias, hiperproteinemias causadas secundariamente por parasitos, desordens linfoproliferativas, dentre outras (Jain, 1993, Harvey 2001). Segundo Jain (1993) e Cowell et al. (2009), a medula óssea dos animais jovens é composta por cerca de 25% de gordura e 75% de células. Esta proporção, que tende a diminuir com a idade, na qual a medula vermelha dos ossos é substituída por medula amarela (afuncional), leva ao decréscimo da eritropoese (Birgel, 1982). Além disso, a celularidade pode variar na presença de enfermidades que acometam diretamente a medula óssea ou que causem citopenias periféricas (González e Silva, 2008, Cowell et al., 2009;

Stockham e Scott, 2011). A celularidade normal da medula óssea é variável e depende da idade, proporcionando, principalmente, a informação do *status* hematopoiético do indivíduo (Jain, 1993). O aumento da celularidade está relacionado com a maior produção de células da série eritróide ou mielóide, em resposta à perda, destruição ou ao consumo de células, enquanto a diminuição da porcentagem de células é causada por infecções, intoxicações ou disfunções imunomediadas (Thrall et al., 2007). A regularidade de maturação, tanto das células eritróide quanto mielóides, geralmente segue uma progressão ordenada, denominada de pirâmide, com poucas formas imaturas (blásticas) no topo e inúmeras formas maduras na base (Cowell et al., 2009). A célula blástica se divide e produz de 16 a 32 células maduras, como os rubríctos, metarrubríctos e hemácias policromatofílicas da série eritróide e os granulócitos metamielócitos, bastonetes e segmentados da série mielóide (Harvey, 2001; Thrall et al., 2007). Além da reserva de ferro, a avaliação e contagem dos linfócitos, plasmócitos, monócitos e macrófagos na medula óssea também deve ser realizada, porém aparecem com menor frequência quando comparada aos outros tipos celulares (Cowell et al., 2009).

#### **2.5.2.2. Série Megacariocítica**

A avaliação dos megacariócitos deve ser realizada de maneira minuciosa, pois

estes não estão uniformemente distribuídos no esfregaço e geralmente estão associados às partículas (Cowell et al., 2009). A interpretação depende da contagem de plaquetas do sangue periférico sendo que, causas como aumento no consumo, maior taxa de destruição ou sequestro esplênico das plaquetas, a concentração de megacariócitos na medula óssea deve estar aumentada (Harvey, 2001; Thrall et al., 2007). Os megacariócitos são células grandes e multinucleadas, facilmente distinguíveis na avaliação citológica da medula óssea (Cowell et al., 2009). O processo de divisão se inicia pelos megacarioblastos, com três a cinco núcleos que sofrem reduplicação, originando de oito a 32 núcleos dentro do megacariócito maduro (Fig. 1). O seu volume aumenta conforme o número de replicações, sendo considerada, conseqüentemente, como a maior célula encontrada na medula óssea, exceto quando comparada aos osteoclastos (Harvey, 2001). Os megacariócitos possuem citoplasma claro a discretamente basofílico e, embora sejam passíveis de mitose, não se dividem, sendo que seus fragmentos citoplasmáticos tornam-se plaquetas no sangue periférico (Thrall et al., 2007). A proliferação e maturação dos megacariócitos ocorrem nos tecidos hematopoiéticos, sobretudo na medula óssea, após estimulação pela trombopoetina (Scott e Stockham, 2011).



UFC – Mg (BUF): Unidade Formadora de Células da Série Megacariocítica

Fonte: Harvey (2001).

Figura 1. Desenho esquemático do desenvolvimento do megacariócito

### 2.5.2.3. Relação mielóide:eritróide

Outro aspecto para ser avaliado no mielograma é a estimativa da relação entre as células nucleadas mielóides e eritróides. Para obter uma proporção entre estas células, é necessário a contagem diferencial de 300 a 500 células no esfregaço, sendo esta relação divergente entre as espécies (Harvey, 2001). A relação mielóide:eritróide (M:E) baixa geralmente está relacionada à hiperplasia eritróide ou hipoplasia mielóide, podendo indicar aumento da produção de hemácias em anemias regenerativas e/ou diminuição na produção de neutrófilos, respectivamente. Já a elevação da relação M:E é indicativo de hiperplasia mielóide e/ou hipoplasia eritróide, devido à ocorrência de inflamação e/ou doenças que levem à anemias não regenerativas, respectivamente (Thrall et al., 2007; Stockham e Scott, 2011).

A relação M:E normal para bovinos é menor que 1, já que o número de células da série eritróide é superior ao de células da série mielóide. O valor é obtido através da divisão de células da série granulocítica pelas da série eritróide, em um total aproximado de

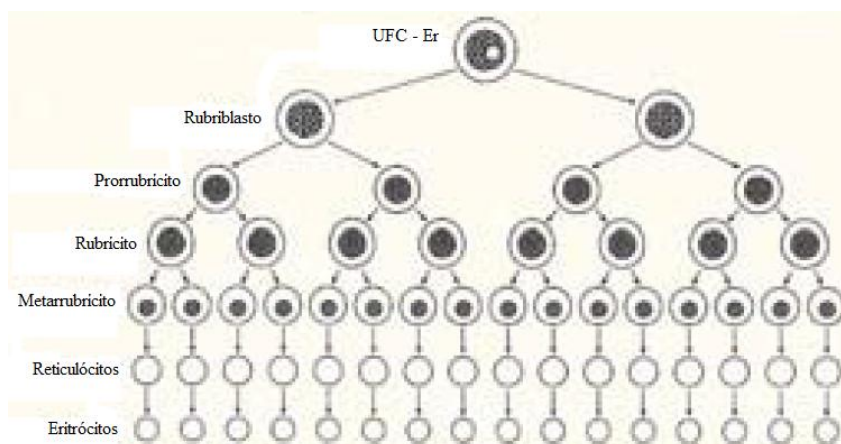
500 células após o diferencial. Já foram realizados vários estudos entre as décadas de 40 e 60 em relação à avaliação da medula óssea de bovinos, com o intuito de estabelecer valores de referência para cada tipo celular e para a relação M:E (Jain, 1993).

De forma geral, uma avaliação subjetiva das proporções de células mielóides e eritróides é o suficiente para propostas diagnósticas, mas uma relação quantitativa diferencial pode ser necessária em pesquisas (Cowell et al., 2009). Uma relação M:E igual a 1,0 indica que a contagem de eritrócitos nucleados é igual a de granulócitos. Quando essa relação está abaixo de 1,0 pode-se considerar que a produção de células da série eritróide excedeu ao da série mielóide, e conseqüentemente quando a relação M:E é superior a 1,0, pode-se considerar que a produção de células granulocíticas foi maior que a de eritropoiese. Entretanto, não se deve descartar a possibilidade de uma diminuição da produção da série mieloide com eritropoiese normal e uma diminuição na produção de células da série eritróide com a mielóide normal, diminuindo e aumentando a relação M:E, respectivamente (Harvey, 2001).

Portanto, a relação M:E deve ser interpretada quanto à celularidade da medula óssea junto ao hemograma, em relação ao hematócrito e contagem de reticulócitos e o total de leucócitos, especialmente com a contagem de neutrófilos (Thrall et al., 2007).

#### 2.5.2.4. Série Eritróide

Durante a proliferação e maturação das células da série eritróide (Fig. 2), ocorre 4 a 5 mitoses, produzindo 16 a 32 células progenitoras. Conforme vão se maturando, as células diminuem de tamanho, condensam o núcleo e modificam a coloração do citoplasma passando pelos estágios de rubriblastos, prorrubricitos, rubricitos, metarrubricitos, reticulócitos e hemácias policromatóflicas (Cowell et al. 2009).



UFC – Er: Unidade Formadora de Células da Série Eritrocítica

Fonte: Reagan et al.(1999)

Figura 2. Desenho esquemático do processo de desenvolvimento das células da série eritróide.

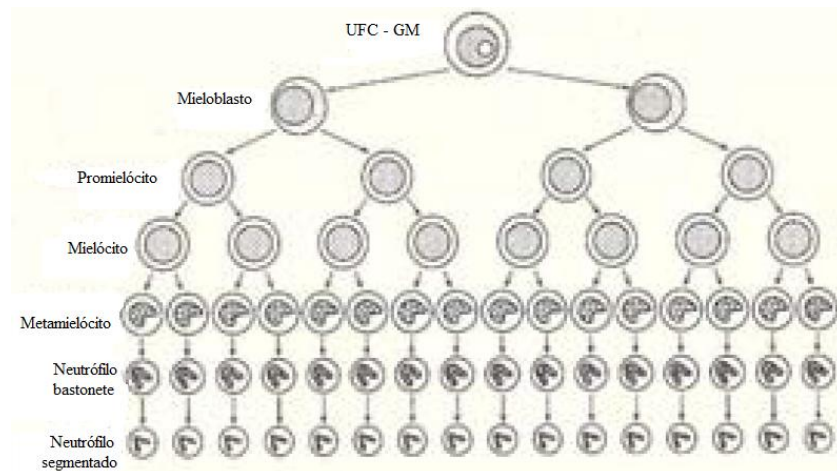
A eritropoiese eficiente, ocasionada pelo estímulo adequado da eritropoetina (Epo), resulta em hiperplasia eritróide e aumento da liberação de células desta linhagem no sangue periférico, causados por distúrbios hemolíticos, perda de sangue, hipóxia tecidual ou produção aumentada de Epo (Stockham e Scott, 2011). Já a hipoplasia eritróide é frequentemente diagnosticada nas anemias não regenerativas, na qual a medula óssea se encontra hipo ou normocelular, com aumento da relação M:E (Cowell et al., 2009).

#### 2.5.2.5. Série Mielóide

No caso das células da série mieloide ou granulocítica, geralmente ocorrem quatro mitoses (Fig. 3). É representada pelos neutrófilos, eosinófilos e basófilos, sendo os estágios de maturação, do mais imaturo para o maduro, os mieloblastos, promielócitos, mielócitos, metamielócitos, bastonetes e granulócitos segmentados (Weiss e Wardrop, 2010). Entretanto, somente os mieloblastos, promielócitos e mielócitos são capazes de sofrer mitoses, sendo denominadas de células de proliferação (Harvey, 2001). Já as células de maturação e armazenamento são representadas pelos granulócitos metamielócitos, bastonetes e

segmentados e englobam cerca de 80 a 85% do total de células granulocíticas

(Cowell et al., 2009).



UFC – GM: Unidade Formadora de Células da Série Granulocítica

Fonte: Reagan et al. (1999)

Figura 3. Desenho esquemático do processo de desenvolvimento das células da série mielóide.

A hiperplasia mielóide é tipicamente caracterizada pelo aumento da contagem de precursores de neutrófilos e são geralmente presentes nos processos inflamatórios, ou em resposta à neutropenias imunomediadas, induzidas por drogas ou idiopáticas (Stockham e Scott, 2011). Já a hipoplasia mielóide está relacionada com a diminuição da produção de neutrófilos, comumente relacionada com ação de agentes infecciosos diretamente na medula óssea, mielofibrose e neoplasias (Cowell et al., 2009).

#### 2.5.2.6. Série Monocítica

A contagem de células da série monocítica é relativamente baixa, representando uma pequena porcentagem do total de células na medula óssea. Os monócitos imaturos possuem a mesma característica daqueles presentes no sangue periférico (Thrall et al., 2007; Cowell et al., 2009). Os macrófagos, células que se originam dos monócitos, também estão em pequenas quantidades na medula, sendo sua morfologia muito variável (Thrall et al., 2007). A hiperplasia monocítica é uma condição rara, mas pode ser observada em associação a hiperplasia mielóide, particularmente quando há um componente macrofágico ou granulomatoso no processo inflamatório (Stockham e Scott, 2011).

### **2.5.2.7. Linfócitos e plasmócitos**

Os linfócitos presentes na medula óssea geralmente possuem tamanhos pequenos à médios, sendo os linfoblastos raramente encontrados em aspirados de medula óssea de animais normais (Thrall et al., 2007). Os plasmócitos são um tipo de linfócito diferenciados que produzem imunoglobulinas que, quando visualizados são denominados de “Células Mott” (Thrall et al., 2007; Cowell et al., 2009). Pode-se visualizar a presença do complexo de Golgi em uma área clara, próxima ao núcleo, justamente onde há mais citoplasma (Cowell et al., 2009). Os linfócitos e plasmócitos estão presentes em número relativamente pequenos na medula óssea. Isso ocorre, pois, logo após a maturação no tecido hematopoiético de células destinadas a se tornarem linfócitos B, ocorre a migração para tecidos linfóides como baço, timo e linfonodos, ao passo que as células destinadas a se tornarem linfócitos T são maturadas nestes locais (Stockham e Scott, 2011).

### **2.6. Cinética e resposta leucocitária nos bovinos**

Na medula óssea, enquanto os neutrófilos e monócitos são estimulados por citocinas inflamatórias inespecíficas como IL-1, IL-3, IL-6 e pelo fator estimulante de colônias, os eosinófilos e basófilos são influenciados por interleucinas específicas, como IL-5 e IL-3, respectivamente. Já para os linfócitos, o compartimento e cinética ficam limitados aos linfonodos e outros tecidos linfóides (Scott e Stockham,

2011). Especificamente a linhagem celular neutrofílica, após migrarem para o compartimento mitótico, ocorre a maturação de mieloblastos, promielócitos e mielócitos. No compartimento de maturação, os metamielócitos desenvolvem-se em neutrófilos bastonetes e então em neutrófilos segmentados, que por sua vez estão prontos para serem liberados em sinusoides medulares, denominado de compartimento de armazenamento. Fatores liberadores de neutrófilos incluem substâncias quimiotáticas como fator complemento (C5a) e citocinas indutoras de leucocitose como IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) (Schalm et al., 1975; Jain, 1993). Após serem liberados, neutrófilos que estão circulando livremente no sangue, são denominados de neutrófilos circulantes, enquanto que, aqueles aderidos às células endoteliais, estão no compartimento marginal de neutrófilos. Após adesão, estimulada por citocinas inflamatórias e mediadores químicos, os neutrófilos podem desprender-se e retornar ao compartimento circulante ou migrar para o compartimento marginal, dependendo do estímulo e da lesão tecidual (Scott e Stockham, 2011). A resposta leucocitária nos ruminantes freqüentemente difere das observadas em outras espécies, atribuindo esta diferença ao fato desses animais possuírem um compartimento de reserva leucocitária na medula óssea, limitado, fazendo com que os neutrófilos imaturos apareçam nos estados inflamatórios agudos importantes, tais como na mastite, peritonite, onfalites e na pericardite traumática (Cole et al. 1997; Taylor, 2000; Kanet e Navarro, 2005). Segundo



Cole et al. 2007 a septicemia bacteriana é freqüentemente caracterizada por neutropenia na maioria das espécies, entretanto, os bovinos, possuem tendência em desenvolver um quadro de neutrofilia nessas situações. Esse evento é denominado, conforme Jain (1993) de neutrofilia de “rebote”, pois há desvio de neutrófilos do *pool* marginal para a circulação, acelerando a liberação de células do compartimento de reserva da medula óssea. Nesses processos, os neutrófilos maduros que se encontram na medula óssea, entram na circulação e a resposta neutrofílica ao corticosteróide é marcada pela migração de neutrófilos

para o local da lesão. Para suprir a rápida demanda estabelecida, a medula óssea lança os neutrófilos maduros, havendo uma depleção dessas células e conseqüentemente, os neutrófilos imaturos entram na circulação, durante as primeiras 24 a 48 horas. Devido à razão neutrófilo:linfócito ser baixa, quando comparada com outras espécies, e a reserva de granulócitos maduros na medula óssea ser limitada, contagens de leucócitos de 20 a 30 x 10<sup>3</sup>/μL são significantes nos bovinos, comparado com contagem de 50 a 100 x 10<sup>3</sup>/μL em situações similares, em cães (Jain, 1993).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Animais, instalação e manejo

Todos os procedimentos realizados nesta pesquisa foram aprovados pelo comitê de ética CETEA-UFMG (protocolo n° 44/2009).

O projeto foi dividido e conduzido em dois experimentos. Para a realização da avaliação citológica da medula óssea (Experimento I), foram selecionados 45 bezerros machos da raça Holandesa, distribuídos igualmente em três faixas etárias (30, 60 e 90 dias de idade). Já para a avaliação da influência dos fatores etário e nutricional sobre o sangue periférico (Experimento II), foram selecionados 30 bezerros machos da raça Holandesa, distribuídos igualmente em cinco grupos, sendo estes acompanhados durante os primeiros três meses de vida.

Um total de 75 bezerros machos de raça Holandesa foi trazido de uma fazenda com aptidão leiteira distante até 90 km de Belo Horizonte/MG. Os procedimentos realizados no local de nascimento foram cura de umbigo (solução de iodo a 10%) e fornecimento de dois litros de colostro, de um banco previamente preparado, em até seis horas após o nascimento e quatro litros de leite/dia em dois fornecimentos até o momento da transferência para a unidade experimental, o que ocorreu entre um e quatro dias de vida.

A fazenda possuía banco de colostros sendo que todos os bezerros receberam entre dois a quatro litros de colostro de alta qualidade até duas horas após o

nascimento e até 12 horas de vida em média receberam mais quatro litros de colostro classificado como de média qualidade. O colostro era oferecido em mamadeira e, caso o animal não tenha bebido espontaneamente, era administrado via sonda esofágica.

O experimento foi realizado em um bezerreiro do tipo argentino, localizado na Escola de Veterinária da UFMG - Belo Horizonte, MG. Os animais foram trazidos ao local do experimento com idades entre um e quatro dias pós-nascimento. O bezerreiro tem capacidade para 42 animais, alojados de forma individual, com 5m de arame para correr e espaçamento de 4m entre os arames. Os animais foram presos aos arames por correntes de 1m de comprimento. Em uma das extremidades do arame havia um suporte para dois baldes, com altura média de 40 cm, e na outra extremidade fica a área de sombra (8,5 m<sup>2</sup>/animal, proveniente de tela com bloqueio de 80% da radiação solar). O piquete onde estava instalado o bezerreiro possuía cobertura de grama batatais (*Paspalumnotatum*) e era cercado por tela de arame. O período experimental foi de setembro de 2010 a março de 2011.

A temperatura mínima do local de experimento variou entre 15 e 29°C e a máxima entre 23 e 41°C. Em média, as temperaturas foram de 20 a 32°C ao longo do dia. O período experimental foi de 185 dias, com pluviometria total de 1.059 mm. O experimento foi realizado nos meses mais quentes e chuvosos do ano, o que caracterizou a

ocorrência de estresse térmico por frio e calor durante o período.

A ingestão do alimento sólido concentrado e a adaptabilidade inicial em relação à ingestão de sucedâneo no balde demoraram, em média, 10 dias após a chegada dos animais. Na chegada ao local do experimento, os

bezerros foram pesados, sendo a alimentação designada de acordo com este peso, dividindo-os em três faixas etárias (Experimento I), conforme descrito no Quadro 1 e em cinco grupos distintos (Experimento II), sendo seis animais em cada grupo, conforme demonstrado no Quadro 2.

Quadro 1. Grupos envolvidos no Experimento I e suas descrições

Grupos (n=15/grupo)	Descrição
<b>30 dias</b>	Bezerros que receberam quatro litros de sucedâneo/dia, se alimentaram de milho farelado e foram eutanasiados aos 30 dias de idade.
<b>60 dias</b>	Bezerros que receberam quatro litros de sucedâneo/dia, se alimentaram de milho farelado e foram eutanasiados aos 60 dias de idade.
<b>90 dias</b>	Bezerros que receberam quatro litros de sucedâneo/dia**, se alimentaram de milho farelado e foram eutanasiados aos 90 dias de idade.

\*Todos receberam quatro litros de sucedâneo/dia e se alimentaram de ração concentrada à base de milho farelada.

\*\*Período de aleitamento de cinco a 60 dias de idade.

Quadro 2. Grupos envolvidos no Experimento II e suas descrições

Grupos (n=6/grupo)	Descrição
<b>Grupo C4/4</b>	Bezerros que receberam quatro litros de sucedâneo/dia durante todo o período de aleitamento** e se alimentaram de milho farelado.
<b>Grupo C6/4</b>	Bezerros que receberam seis litros de sucedâneo** /dia no primeiro mês e quatro litros/dia no segundo mês de vida e se alimentaram de milho farelado.
<b>Grupo C6/6</b>	Bezerros que receberam seis litros de sucedâneo de leite/dia durante todo o aleitamento** e se alimentaram de milho farelado.
<b>Grupo MF4/4</b>	Bezerros que receberam quatro litros de sucedâneo/dia durante todo o período de aleitamento** e se alimentaram de milho tipo floculado.
<b>Grupo MG4/4</b>	Bezerros que receberam quatro litros de sucedâneo/dia durante todo o aleitamento** e se alimentaram de milho tipo grosso.

\*n=6 animais por grupo.

\*\*Período de aleitamento de cinco a 60 dias de idade.

A cura de umbigo foi realizada por mais três dias com solução de iodo a 7%. Entretanto, 12 dos 30 bezerros já

chegaram ao local do experimento apresentando algum grau de inflamação umbilical.

Os bezerros foram inspecionados diariamente de acordo com a metodologia proposta por Diaz et al. (2001), exceto pela mensuração da temperatura retal que foi realizada todos os dias após o aleitamento. Neste momento era feita avaliação do estado geral que os bezerros apresentaram, do grau de hidratação e da ocorrência de diarreia que, por sua vez, apresentou 100% de morbidade no bezerreiro. Durante todos os dias em diarreia foi fornecido soro oral (dois litros, duas vezes ao dia, composto por: 20g de glicose de milho, 5g NaCl, 4g NaHCO<sub>3</sub> e 1g KCl para um litro de água morna,

com temperatura aproximada entre 38 a 40°C de temperatura).

O aleitamento foi realizado com sucedâneo de leite (Lacthor, Tortuga Companhia Zootécnica Agrária), composto de soro de leite (70%), óleo vegetal (óleo de coco), premix vitamínico, proteína concentrada de soja e proteína isolada de trigo. Os níveis de garantia do leite sucedâneo e os resultados da análise bromatológica, realizada no Laboratório de Nutrição da EV-UFMG são apresentados nas tab. 1 e 2, respectivamente. O sucedâneo foi diluído em água a 45°C para 12,5% de sólidos totais (1:8).

Tabela 1. Níveis de garantia do leite sucedâneo.

	Por kg do produto	Por litro do sucedâneo preparado (1:8)
Proteína bruta (mín.)	225,0 g	28,1 g
Gordura vegetal (mín.)	170,0 g	21,3 g
Matéria mineral (máx.)	95,0 g	11,9 g
Fibra bruta (máx.)	2.000,0 mg	250,0 mg
Cobre (mín.)	9,0 mg	1,1 mg
Vitamina A (mín.)	55.000,0 U.I.	6,9 U.I.
Vitamina D3 (mín.)	45.000,0 U.I.	562,5 U.I.
Vitamina E (mín.)	80,0 U.I.	10,0 U.I.
Lactose	440,0 g	55,0 g

Tabela 2. Composição nutricional dos alimentos fornecidos.

Composição	Concentrado	Capim <sup>3</sup>	Sucedâneo
Materia Seca	96,5	22,0	94,6
Proteína Bruta <sup>1</sup>	20,4	3,9	20,7
Extrato Etéreo <sup>1</sup>	6,9	1,7	17,0
Fibra Detergente Neutro <sup>1</sup>	12,50	11,86	-
Fibra Detergente Ácido <sup>1</sup>	4,00	6,11	-
Cinzas <sup>1</sup>	16,00	3,10	9,70
Cálcio <sup>1</sup>	2,95	0,77	2,88
Fósforo <sup>1</sup>	1,26	0,06	0,76
Energia Metabolizável <sup>2</sup>	-	-	4,16

<sup>1</sup>Valores em percentual da MS

<sup>2</sup>EM (Mcal/kg) do sucedâneo calculada a partir da equação  $EM = 0,9 \{(9,21 \times \%gordura) + (5,86 \times \%proteína) + (3,95 \times \%lactose)\}$ , segundo Drackley, 2008).

<sup>3</sup>Valores relativos à matéria seca total

A quantidade total de sucedâneo (4 ou 6 litros/dia) foi fornecida em duas porções iguais às 8:00h e 16:00h. O sucedâneo foi fornecido desde o início em balde. Quando o consumo não era espontâneo, o bezerro recebia ajuda com dedo ou bico de mamadeira, e, em último caso, o fornecimento era realizado com mamadeira. Os baldes eram lavados após cada aleitamento e recolocados nos suportes para o fornecimento de água. No Experimento I, somente os 15 animais do grupo faixa etária 90 dias de idade foram desaleitados aos 60 dias. Já para o Experimento II, todos os animais dos cinco grupos foram desaleitados de forma abrupta aos 60 dias, procedimento comumente utilizado em fazendas leiteiras no Brasil.

Foi disponibilizada água à vontade, em baldes de metal com capacidade para oito litros, desde o momento da chegada ao local do experimento. A água era trocada duas vezes ao dia, após cada aleitamento, e repostada às 12:00h e às 15:00h quando necessário. Todos os animais receberam concentrado à vontade a partir do terceiro dia de vida. O concentrado era composto por núcleo proteico, mineral e vitamínico e milho moído fino (tab. 2). Inicialmente todos os bezerros receberam 100 g de concentrado/dia, quantidade que foi ajustada de acordo com o consumo de cada animal.

Os baldes para fornecimento de concentrado, identificados com o número do bezerro, eram retirados sempre antes do aleitamento da manhã, para pesagem das sobras, e recolocados com a quantidade total de concentrado do dia em até uma hora após o fim do

aleitamento. No final da tarde, era avaliada a quantidade de concentrado em cada balde e adicionado mais concentrado se necessário. Estes baldes eram lavados uma vez por semana. Nos dias de chuva não foi possível avaliar o consumo de concentrado, de modo que nestes dias somente os dados daqueles bezerros que consumiram todo o alimento disponível foram registrados.

A avaliação da presença de hemoparasitos era realizada em amostras dos animais que apresentaram volume globular abaixo de 20%. A técnica utilizada para este tipo de exame foi através da microscopia óptica utilizando a objetiva de maior aumento (x100 sob óleo de imersão) através da análise do esfregaço da ponta de orelha. Entretanto, não foram diagnosticados agentes como *Babesia spp* e *Anaplasma spp*. em nenhum dos animais avaliados. Porém, a ausência de resultados negativos não descarta a possibilidade de animais positivos para estas espécies de hemoparasitas. A técnica que foi empregada para este tipo de análise é considerada como sendo de baixa sensibilidade, portanto aumentado as chances da ocorrência de resultados falsos negativos.

### **3.2. Coleta de amostras e análises laboratoriais**

Experimento I – Para realização dos hemogramas, foram obtidas amostras de sangue por venopunção jugular após assepsia local com álcool iodado à 10%. Foram coletadas 15 amostras de medula óssea dos bezerros em cada faixa etária (30, 60 e 90 dias de idade) antes do sacrifício dos animais. A contenção dos

bezerros era realizada por dois ou mais responsáveis, da maneira mais tranquila possível. A coleta foi realizada em tubos de 5 ml a vácuo contendo solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) à 10%. Os esfregaços sanguíneos foram confeccionados logo após a coleta e corados posteriormente com corante hematológico rápido<sup>1</sup>. Foi feito um esfregaço sanguíneo em lâmina de vidro para cada momento. Foi realizada a contagem diferencial dos leucócitos e avaliação morfológica dos três tipos celulares (leucócitos, hemácias e plaquetas) em microscópio óptico. As contagens de hemácias, leucócitos e plaquetas foram realizadas em contador automático de impedância<sup>2</sup> padronizado para a espécie em estudo. Foram considerados os valores de leucócitos totais, hemácias, hemoglobina e plaquetas. O volume globular foi obtido pela técnica do microhematócrito utilizando microcentrífuga<sup>3</sup> na rotação de 10.000 rpm por 5 minutos e os valores de VCM e CHCM foram posteriormente calculados. Para análise do proteinograma, a mensuração dos valores de proteína total plasmática foi realizada pela técnica de refratometria, utilizando o plasma do microhematócrito após centrifugação. A concentração de fibrinogênio foi determinada pelo clássico método de precipitação pelo calor, conforme descrito por Kaneko e Smith (1967), padronizado por Jain (1993).

---

<sup>1</sup> Panótico Rápido Newprov®

<sup>2</sup> Abacus Vet Júnior - Diatron®

<sup>3</sup> Centrimicro®

Para coleta de medula óssea, os 45 bezerros foram eutanasiados, sendo 15 em cada faixa etária avaliada (30, 60 e 90 dias de idade). Deve-se ressaltar que a realização do procedimento de eutanásia estabelecido no experimento foi em decorrência de outros projetos maiores que utilizaram os mesmos animais. Nestes projetos, os bezerros eram sacrificados para a avaliação através da pesagem dos compartimentos gástricos e de outros órgãos como fígado, baço e rins. Para a eutanásia, foram utilizados Xilazina (3ml/100kg PV), Tiopental (60-90 mg/kg PV) e Cloreto de potássio (10 a 20 mL à efeito). Os fragmentos para avaliação citológica foram coletas do fêmur durante a necropsia imediatamente após a eutanásia dos animais, respeitando o tempo máximo de 30 minutos. Foi realizado um corte transversal do osso e um pequeno fragmento de amostra da medula óssea era separado para confecção dos esfregaços, utilizando a técnica de *squash*. Foram confeccionadas quatro lâminas de cada bezerro e armazenadas, após secagem, em papel toalha. No laboratório, as lâminas foram coradas com corante hematológico rápido<sup>1</sup>. A avaliação dos esfregaços de medula óssea foi feita em microscopia óptica, selecionando a melhor lâmina em relação à quantidade de partículas e a morfologia celular. Na objetiva de 10x, foram analisadas a porcentagem de celularidade e a concentração de megacariócitos, avaliando, no mínimo, 10 partículas/amostra. Foram contadas, em média, 500 células por lâmina, para o exame diferencial das mesmas. Para análise morfológica e diferenciação celular, as lâminas foram analisadas na

objetiva de 100x, sob óleo de imersão. Os tipos celulares foram classificados dentro dos dois grandes grupos (eritróide e mielóide), além da contagem de linfócitos, plasmócitos, monócitos/macrófagos. A relação mielóide:eritróide (M:E) foi calculada dividindo-se o total de granulócitos pelo total das células eritróides nucleadas.

Experimento II – Para realização dos hemogramas, foram obtidas amostras de sangue por venopunção jugular após da assepsia local com álcool iodado à 10%. A primeira coleta foi realizada a partir do 5º dia de vida de cada bezerro. As coletas subsequentes foram realizadas aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o nascimento, totalizando sete momentos. As coletas de sangue foram estabelecidas como primeiro manejo durante o dia no bezerreiro, sendo realizada logo pela manhã, antes do fornecimento do sucedâneo. A contenção dos bezerros era realizada por dois ou mais responsáveis, da maneira mais tranquila possível.

A coleta foi realizada em tubos de 5 ml a vácuo contendo solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) à 10%. Os esfregaços sanguíneos foram confeccionados logo após a coleta e corados posteriormente com corante hematológico rápido<sup>1</sup>. Foi feito um esfregaço sanguíneo com lâmina de vidro para cada momento. Foi realizada a contagem diferencial dos leucócitos e avaliação morfológica dos três tipos celulares (leucócitos, hemácias e plaquetas) em microscópio óptico. As contagens de hemácias, leucócitos e

plaquetas foram realizadas em contador automático de impedância<sup>2</sup> padronizado para a espécie em estudo. Foram considerados os valores de leucócitos totais, hemácias, hemoglobina e plaquetas. O volume globular foi obtido pela técnica do microhematócrito utilizando microcentrífuga<sup>3</sup> na rotação de 10.000 rpm por 5 minutos e os valores de VCM e CHCM foram posteriormente calculados.

### 3.3. Delineamento experimental

Experimento I - O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, composto de três grupos que representam as três faixas etárias.

Experimento II - O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em arranjo de parcelas subdivididas. As parcelas foram constituídas por cinco diferentes manejos alimentares que representaram os tratamentos e as subparcelas, que foram constituídas por sete idades, sendo representadas pelos momentos.

### 3.4. Análise estatística

Experimento I - Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade entre as idades. Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de T de Student com 5% de significância, utilizando o *software* SAEG (versão 9.1).

Para as variáveis estudadas, o modelo matemático utilizado foi:

---

<sup>1</sup> Panótico Rápido Newprov®

<sup>2</sup> Abacus Vet Júnior - Diatron®

<sup>3</sup> Centrimicro®

$Y_{ij} = \mu + I_i + e_{ij}$ ; em que:  
 $Y_{ij}$  = observação da idade  $i$  (fator etário) na repetição  $j$ ;  
 $\mu$  = efeito médio geral;  
 $I_i$  = efeito da idade  $i$  (fator etário), sendo  $i = 30, 60$  e  $90$  dias;  
 $e_{ij}$  = erro aleatório da observação da idade  $i$  da repetição  $j$ .

Os resultados das contagens de eosinófilos e basófilos, tanto do hemograma quanto da citologia de medula óssea foram analisados pela estatística não paramétrica submetidos ao teste de Kruskal-Wallis com 5% de significância.

Foi também realizada a estimativa de correlações de Pearson entre variáveis dependentes considerando 5% de significância.

Nos parâmetros avaliados, a variabilidade da amostra foi determinada pelo desvio padrão das médias e dos valores mínimo e máximo das medianas, quando a distribuição dos dados não era normal.

Experimento II - Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade entre os tratamentos. Os resultados dos parâmetros volume globular, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos e plaquetas sofreram transformação logarítmica (*log*) para obtenção de distribuição normal e homocedástico. Os resultados de contagem de hemácias, concentração de hemoglobina, VCM, CHCM, HCM, RDW e relação neutrófilo:linfócito obtiveram distribuição normal. Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo

teste de Student-Newman-Keuls com 5% de significância, utilizando o *software* Sistema de Análises Estatísticas e Genética - SAEG (versão 9.1).

Para os tempos de avaliação, foi utilizado modelo de regressão linear para as variáveis CHCM e linfócitos totais e de regressão logarítmica para VCM, HCM e concentração de globulinas. Foi também realizada a estimativa de correlações de Pearson para variáveis normais e dependentes considerando 5% de significância.

Para as variáveis estudadas, o modelo matemático utilizado foi:

$Y_{ijk} = \mu + T_i + I_j + (TI)_{ij} + e_{ijk}$ ; em que:  
 $Y_{ijk}$  = observação do grupo  $i$  (fator nutricional), na idade  $j$  (fator etário) da repetição  $k$ ;  
 $\mu$  = efeito médio geral;  
 $T_i$  = efeito do grupo (fator nutricional), sendo  $i = C4/4, C6/4, C6/6$  (sucedâneo);  $C4/4, MF4/4$  e  $MG4/4$  (ração);  
 $I_j$  = efeito da idade (fator etário), sendo  $j = 5, 15, 30, 45, 60, 75$  e  $90$  dias;  
 $(TI)_{ij}$  = interação entre efeito nutricional (grupo) e efeito etário (idade);  
 $e_{ijk}$  = erro aleatório da observação do grupo  $i$  na idade  $j$  da repetição  $k$ .

Os resultados da contagem de mielócitos, metamielócitos, neutrófilo bastonete, eosinófilo, basófilos e monócitos não apresentaram distribuição normal e homocedasticidade entre os tratamentos, sendo submetidos à análise de Kruskal-Wallis e Friedman com 5% de significância. Nas variáveis analisadas,



a variabilidade da amostra foi determinada pelos desvios padrão.

Para comparação entre as médias das variáveis que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na interação entre tratamentos (grupos) e momentos (idades), os grupos “sucedâneo de leite” e “granulometria da ração” foram analisados **separadamente**.

Para comparação entre as médias das variáveis que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) **somente entre os momentos** (idades), os cinco grupos foram analisados como um único tratamento, diferenciando-os apenas na média geral.

Para comparação entre as médias das variáveis que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) **somente entre os tratamentos** (grupos), os sete momentos foram analisados como uma única idade, diferenciando-os apenas na média geral.

Ressalta-se ainda que o grupo C4/4 é **comum** tanto para “sucedâneo de leite” quanto para “granulometria da ração”.

## **Artigo 1 – Avaliação citológica de medula óssea de bezerros machos da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade**

*[Article 1 - Cytological evaluation of bone marrow Holstein male calves at 30, 60 and 90 days of age]*

### **RESUMO**

Objetivou-se no presente trabalho avaliar a influência do fator etário sobre a citologia da medula óssea de 45 bezerros machos da raça Holandesa. Os bezerros foram divididos em três grupos de acordo com a faixa etária, aos 30, 60 e 90 dias de idade. Imediatamente antes e após o sacrifício dos animais foram coletadas amostras de sangue periférico e de medula óssea, respectivamente. A técnica de coleta da medula óssea empregada, durante a necropsia, na parte proximal do fêmur, permitiu a avaliação das concentrações celulares e de megacariócitos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso e as médias comparadas pelo Teste T com 5% de significância. Apesar da concentração celular da permanecer constante ( $p>0,05$ ) durante os primeiros três meses de vida, a concentração de megacariócitos e a relação mielóide:eritróide (M:E) foram significativamente ( $p<0,05$ ) maiores aos 30 dias de idade. Aos 60 dias, a elevação ( $p<0,05$ ) da proporção de células precursoras eritróides foi acompanhada por aumento ( $p<0,05$ ) da concentração de hemácias no sangue periférico. Aos 90 dias de idade, apesar da manutenção ( $p>0,05$ ) da relação M:E, ocorreu diminuição ( $p<0,05$ ) da concentração eritróide no sangue. Esta diferença foi atribuída à expansão do volume corpóreo e, conseqüentemente, sanguíneo, nesta faixa etária. Aos 60 dias de idade ocorreu diminuição ( $p<0,05$ ), mantida ( $p>0,05$ ) aos 90 dias, das concentrações de neutrófilos segmentados e bastonetes da medula óssea, caracterizando baixo compartimento de reserva medular destas células nos bezerros nesta idade. Apesar da concentração de linfócitos na circulação periférica ter aumentado ( $p<0,05$ ) com o avanço da idade, a contagem de suas células precursoras na medula óssea não se alterou ( $p>0,05$ ) nos primeiros 90 dias de idade. Concluiu-se que há alterações significativas nas contagens celulares na medula óssea de bezerros machos da raça Holanesa nos primeiros três meses de vida, no qual o aumento da concentração de megacariócitos e de células precursoras eritróides é acompanhado pela elevação na contagem de plaquetas e da concentração de hemácias no sangue periférico, respectivamente.

Palavras-chave: bezerros, gado Holandês, mielograma, mielóide, eritróide, relação M:E.

### **ABSTRACT**

*The objective of the present study was to evaluate the influence of age factor on bone marrow cytology of 45 Holstein male calves. The calves were divided into three groups according to age at 30, 60 and 90 days old. Immediately before and after the euthanasia of animals, samples of peripheral blood and bone marrow, respectively, was collected. The bone marrow collects technique collects employed during necropsy, in proximal femur, allowed the evaluation of cell and megakaryocytes concentrations. The study*

was conducted in a completely randomized design and the means were compared with T test at 5% significance. Although the concentration of cell remained constant ( $p > 0,05$ ) during the first three months of life, the concentration of megakaryocytes and myeloid:erythroid ratio (M: E) were significantly ( $p < 0,05$ ) higher at 30 days of age. At 60 days, an increase ( $p < 0,05$ ) erythroid precursor cells proportion of was accompanied by an increase ( $p < 0,05$ ) concentration of red blood cell counts in the peripheral blood. At 90 days of age, despite of the maintenance ( $p > 0,05$ ) of the M:E ratio, there was a decrease ( $p < 0,05$ ) in blood erythroid concentration. This difference was attributed to the expansion of the body, and consequently blood volume in this age group. At 60 days of age there was a decrease ( $p < 0,05$ ), maintained ( $p > 0,05$ ) at 90 days, in segmented and bands neutrophils concentrations in bone marrow, featuring low reserve medullary compartment of these cells in calves at this age. Although the concentration of lymphocytes in the peripheral blood increased ( $p < 0,05$ ) with advancing of age counting their precursor cells in bone marrow did not change ( $p > 0,05$ ) during the first 90 days old. Concluded that there are significant changes in the cell counts of bone marrow and peripheral blood in Holstein calves during the first three months of life in which the megakaryocytes and erythroid precursor cells concentration is accompanied by the elevation in platelet count and red blood cells concentration in peripheral blood, respectively.

*Keywords: calves, Holstein cattle, mielogram, myeloid, erythroid, M:E ratio.*

## INTRODUÇÃO

A medula óssea tem como principal função a hematopoiese de células megacariocíticas, eritróides, granulocíticas, monocíticas e linfocíticas. Nos animais em crescimento, a hematopoiese ocorre no interior dos ossos longos e chatos. À medida que o animal envelhece, a região do canal medular é substituída por tecido adiposo, permanecendo a medula ativa nos locais esponjosos, como epífises e metáfises ósseas (Raskin, 1996).

A obtenção de amostras para citologia de medula óssea (mielograma) é considerado um procedimento pouco invasivo, rápido e fácil, além de não causar danos ao indivíduo (Harvey, 2001), porém não é comumente realizado em grandes animais.

Ocasionalmente, coletam-se amostras de animais mortos, tornando uma alternativa viável, caso necessário (Cowell et al. 2009).

A concentração celular medular, também denominada celularidade, é variável e depende principalmente da idade do indivíduo. Os animais jovens possuem, na medula óssea, cerca de 25% de gordura e 75% de células. Nos jovens adultos essa proporção se iguala e nos animais geriátricos ela se inverte, com cerca de 75% de tecido adiposo e 25% de celularidade (Jain, 1993; Cowell et al., 2009). O exame é indicado quando não há justificativa para alterações quantitativas ou morfológicas dos tipos celulares sanguíneos (Harvey 2001).

Diversos trabalhos já descreveram, em espécies variadas, as características morfológicas dos tipos celulares e dos distúrbios mieloproliferativos das linhagens mielóides ou eritróides presentes na medula óssea (Jain, 1993; Harvey, 2001; Thrall et al., 2007; Cowell et al., 2009; Stockham e Scott, 2011). Entretanto são poucos os estudos envolvendo o exame citológico em espécies como bovinos, tampouco de sua relação com o desenvolvimento etário (Paes et al., 2011). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do fator etário sobre a citologia de medula óssea em bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.

## MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados nesta pesquisa foram aprovados pelo comitê de ética CETEA-UFMG (protocolo n° 44/2009).

O experimento foi realizado em um bezerreiro do tipo argentino localizado na Escola de Veterinária da UFMG - Belo Horizonte, MG. Os animais nascidos em fazenda de aptidão leiteira, foram deslocados para o local de experimento entre um e quatro dias pós-nascimento. Foram utilizados 45 bezerros machos da raça Holandesa distribuídos nas faixas etárias de 30, 60 e 90 dias de idade, cada grupo composto por 15 animais. Os animais foram alimentados com quatro litros de sucedâneo por dia e ração concentrada farelada a base de milho. Para os bezerros até 90 dias, o desaleitamento ocorreu de forma abrupta aos 60 dias de

idade. O piquete onde estava instalado o bezerreiro possuía cobertura de grama batatais (*Paspalumnotatum*) e a pastagem, assim como o consumo de água, eram realizadas de forma natural, *ad libitum*.

Para realização dos hemogramas, foram obtidas amostras de sangue por venopunção jugular aos 30, 60 e 90 dias de idade, antes do sacrifício dos animais. A contenção dos bezerros foi realizada de forma gentil, com a intenção de causar o mínimo estresse possível. A coleta foi realizada em tubos de 5 ml a vácuo contendo solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) à 10%. Os esfregaços sanguíneos foram confeccionados logo após a coleta e corados posteriormente com corante hematológico rápido<sup>1</sup>. Foi realizado um esfregaço sanguíneo em lâmina de vidro para cada momento. Foi realizada a contagem diferencial dos leucócitos e avaliação morfológica dos três tipos celulares (leucócitos, hemácias e plaquetas) em microscópio óptico. As contagens de hemácias, leucócitos e plaquetas foram realizadas em contador automático tipo impedância<sup>2</sup> padronizado para a espécie em estudo. Foram considerados os valores de leucócitos totais, hemácias, hemoglobina e plaquetas. O volume globular foi obtido pela técnica do microhematócrito utilizando microcentrífuga<sup>3</sup> na rotação de 10.000 rpm por 5 minutos e os valores de VCM e CHCM foram posteriormente calculados. Para análise do proteinograma, a mensuração dos

---

<sup>1</sup> Panótico Rápido Newprov®

<sup>2</sup> Abacus Vet Júnior - Diatron®

<sup>3</sup> Centrimicro®

valores de proteína total plasmática foi realizada pela técnica de refratometria, utilizando o plasma do microhematócrito após a centrifugação. A concentração de fibrinogênio foi determinada pelo método de precipitação pelo calor, conforme descrito por Kaneko e Smith (1964), padronizado por Jain (1993).

Para coleta de medula óssea, os 45 bezerros foram eutanasiados, aos 30, 60 e 90 dias de idade, composto de 15 animais em cada faixa etária. Deve-se ressaltar que a realização do procedimento de eutanásia estabelecido no experimento foi em decorrência de outros projetos maiores que utilizaram os mesmos animais. Para a eutanásia, foram utilizados Xilazina (3ml/100kg PV), Tiopental (60-90 mg/kg PV) e Cloreto de potássio (10 a 20 mL à efeito). Para a eutanásia, foram utilizados cloridrato de xilazina na dose de 0,10 a 0,30 mg/Kg/IV em associação com tiopental 5% na dose de 1g/200Kg/IV. Os fragmentos para avaliação citológica foram coletas do fêmur durante a necropsia imediatamente após a eutanásia dos animais, respeitando o tempo máximo de 30 minutos. Foi realizado um corte transversal do osso e um pequeno fragmento de amostra da medula óssea era separado para confecção dos esfregaços, utilizando a técnica de *squash*. Foram confeccionadas quatro lâminas de cada bezerro e armazenadas, após secagem, em papel toalha. No laboratório, as lâminas foram coradas com corante hematológico rápido<sup>1</sup>. A avaliação dos esfregaços de medula óssea foi feita em microscopia óptica, selecionando a melhor lâmina em

relação à quantidade de partículas e a morfologia celular. Na objetiva de 10x, foram analisadas a porcentagem de celularidade e a concentração de megacariócitos, avaliando, no mínimo, 10 partículas/amostra. Foram contadas, em média, 500 células por lâmina, para o exame diferencial das mesmas. Para análise morfológica e diferenciação celular, as lâminas foram analisadas na objetiva de 100x, com o uso de óleo de imersão. Os tipos celulares foram classificados dentro dos dois grandes grupos (eritróide e mielóide), além da contagem de linfócitos, plasmócitos, monócitos/macrófagos. A relação mielóide:eritróide (M:E) foi calculada dividindo-se o total de granulócitos pelo total das células eritróides nucleadas.

Para a análise estatística o delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente ao acaso, composto de três grupos que representam as três faixas etárias. Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade entre as idades. Todas as variáveis foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de T de Student a 5% de significância, utilizando o *software* SAEG (versão 9.1). Os resultados das contagens de eosinófilos e basófilos, tanto do hemograma quanto da citologia de medula óssea foram analisados pela estatística não paramétrica submetidos ao teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. Foi também realizada a estimativa de correlações de Pearson entre variáveis dependentes considerando 5% de significância. Nos parâmetros avaliados, a variabilidade da amostra foi determinada pelo desvio

padrão das médias e dos valores mínimo e máximo das medianas.

Na tab. 1 estão descritos os valores médios e desvios padrão dos resultados dos hemogramas dos bezerros aos 30, 60 e 90 dias de idade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Valores dos hemogramas de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade provenientes da região de Belo Horizonte/MG

	Idade (dias)		
	30 (n=15)	60 (n=15)	90 (n=15)
<b>Leucócitos totais (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	13,30 ± 4,12	13,29 ± 3,68	15,65 ± 4,83
<b>Neutrófilos mielócitos (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
<b>Neutrófilos metamielócitos (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	0,24 ± 0,15	0,20 ± 0,10	0,22 ± 0,09
<b>Neutrófilos bastonetes (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	0,38 ± 0,19	0,47 ± 0,22	0,58 ± 0,32
<b>Neutrófilos segmentados (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	6,83 ± 4,07	5,31 ± 1,93	6,27 ± 2,92
<b>Linfócitos (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	5,83 <sup>b</sup> ± 3,24	6,53 <sup>ab</sup> ± 2,42	8,03 <sup>a</sup> ± 2,98
<b>Relação N:L</b>	1,60 ± 1,41	0,95 ± 0,61	0,90 ± 0,58
<b>Eosinófilos (x10<sup>3</sup>/μl)*</b>	0,00 (0 – 0,49) <sup>b</sup>	0,44 (0 – 3,45) <sup>a</sup>	0,20 (0 – 0,83) <sup>a</sup>
<b>Basófilos (x10<sup>3</sup>/μl)*</b>	0,00 (0 – 0) <sup>b</sup>	0,00 (0 – 0,29) <sup>ab</sup>	0,00 (0 – 0,62) <sup>a</sup>
<b>Monócitos (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	0,41 ± 0,29	0,43 ± 0,55	0,57 ± 0,51
<b>Hemácias (x10<sup>6</sup>/μl)</b>	8,91 <sup>b</sup> ± 1,56	11,14 <sup>a</sup> ± 1,42	9,63 <sup>b</sup> ± 1,00
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	9,30 <sup>b</sup> ± 1,61	11,31 <sup>a</sup> ± 1,57	9,90 <sup>b</sup> ± 0,88
<b>Volume globular (%)</b>	30,40 <sup>b</sup> ± 4,60	34,07 <sup>a</sup> ± 4,18	29,93 <sup>b</sup> ± 2,00
<b>VCM (fL)</b>	33,88 <sup>a</sup> ± 1,98	30,61 <sup>b</sup> ± 1,69	31,38 <sup>b</sup> ± 3,40
<b>CHCM (g/L)</b>	30,56 <sup>b</sup> ± 1,97	33,16 <sup>a</sup> ± 2,17	33,15 <sup>a</sup> ± 1,23
<b>RDW (%)</b>	23,66 <sup>a</sup> ± 1,68	23,47 <sup>ab</sup> ± 1,02	22,41 <sup>b</sup> ± 1,36
<b>Plaquetas (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	537 <sup>a</sup> ± 211	356 <sup>b</sup> ± 89	389 <sup>b</sup> ± 99
<b>PPT (g/dL)</b>	5,11 <sup>b</sup> ± 0,55	5,87 <sup>a</sup> ± 0,72	6,05 <sup>a</sup> ± 0,47
<b>Fibrinogênio (mg/dL)</b>	467 ± 145	387 ± 160	467 ± 123

Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem estatisticamente pelo Teste T (p<0,05).

\*Medianas (mínimo – máximo) seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem estatisticamente pelo Teste Kruskal-Wallis (p<0,05).

As concentrações de leucócitos totais, dos neutrófilos jovens e de neutrófilos segmentados não variaram ( $p > 0,05$ ) entre as três idades. Nos bovinos, segundo Thrall et al. (2007), a leucocitose acentuada é representada por contagens celulares entre 20 a 25 x 10<sup>3</sup>/µl, com desvio à esquerda discreto e regenerativo. Aos 30 e 60 dias de idade, nenhum dos bezerros apresentou este tipo de resposta. No entanto, aos 90 dias, 3/15 (20,0%) bezerros, sendo dois deles devido ao quadro de onfalite, apresentaram contagens de leucócitos totais discretamente acima de 20 x 10<sup>3</sup>/µl, caracterizados por leucocitose por neutrofilia e/ou linfocitose. Apesar de 3/15 (20,0%), 1/15 (6,6%) e 3/15 (20,0%) bezerros nas idades 30, 60 e 90 dias, respectivamente, terem sido diagnosticados com quadro de onfalite, nenhum deles apresentou hiperfibrinogenemia ou alterações morfológicas dos leucócitos, como neutrófilos tóxicos ou monócitos reativos, características comuns no processo inflamatório na espécie (Schalm et al., 1975; Jain, 1986). Fagliari et al. (1998) e Benesi et al. (2012), estudando o leucograma de bezerros Holandeses do nascimento até 30 dias e Mohri et al. (2007) avaliando os mesmos parâmetros até 84 dias de idade, obtiveram valores de leucócitos totais dentro do intervalo de referência para bovinos adultos. Neste estudo, houve aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da contagem de linfócitos, eosinófilos e basófilos com o avançar da idade, achados estes comuns na espécie bovina e já relatados por diversos autores (Jain, 1986; Jones e Allison, 2007; Rocha et

al., 2010; Mohri et al., 2007; Paes et al., 2011; Benesi et al., 2012). Segundo Jain (1986), o bezerro neonato inicia sua vida com menos linfócitos circulantes e, até os três meses de vida, a concentração deste tipo celular dobra, representando de 70 a 80% do total de leucócitos. Apesar de não demonstrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na relação neutrófilo:linfócito, a inversão da proporção entre dois tipos celulares foi verificada aos 60 dias de idade. A contagem de linfócitos apresentou média superior somente aos 90 dias de idade, quando se diferenciou significativamente ( $p < 0,05$ ) em relação ao primeiro momento (M30). A concentração de monócitos não variou ( $p > 0,05$ ) e permaneceu dentro dos limites de referência nos três momentos avaliados.

No eritrograma, a contagem de hemácias, concentração de hemoglobina e o volume globular, denominados de parâmetros eritrocitários, foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) aos 60 dias quando comparado às duas outras idades. Segundo Egli e Blum (1998) e Knowles et al. (2000), os parâmetros eritrocitários, em bezerros de até três meses de idade, permanecem dentro dos valores de referência para bovinos adultos. O aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na contagem de hemácias no segundo mês de vida foi acompanhado pela elevação na concentração de hemoglobina e do volume globular. Portanto, estas alterações foram proporcionais, já que resultaram em diminuição do volume corpuscular médio (VCM) e aumento da

concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Com isso, este achado pode ser atribuído principalmente pela intensa elevação na concentração de hemácias já que, mesmo com a diminuição do VCM, houve aumento do volume globular. Segundo Brum-Hasen et al. (2006), o aumento no número de hemácias circulantes provavelmente é em decorrência de um mecanismo compensatório pela diminuição do volume corpuscular médio que ocupam, na tentativa de manter o volume globular estável. O VCM permaneceu sempre abaixo dos valores de referência, porém diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) com o avançar da idade, acompanhado pelo aumento da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) que foi menor ( $p < 0,05$ ) aos 30 dias de idade. Como descrito por Jain (1986), o tamanho médio da hemácia fetal durante a gestação varia de 90 a 100 fL, diminuindo por menos da metade logo após o nascimento e decrescendo durante os primeiros três a quatro meses quando, a partir dos seis meses a um ano de vida, atingem valores referentes à bovinos adultos. Esta redução gradativa do VCM reflete a substituição de hemácias contendo hemoglobina F (hemoglobina fetal), por hemácias menores contendo hemoglobina tipo A (hemoglobina do adulto) (Lee et al. 1971; Jain, 1986; Knowles et al. 2000). A amplitude de variação do volume celular (RDW) foi

maior ( $p < 0,05$ ) no primeiro mês de vida que, conforme Paes et al. (2011) é ocasionado pela substituição gradativa das células fetais pelas células produzidas pelo bezerro, caracterizando discreta a moderada anisocitose, devido a presença de hemácias de diferentes tamanhos na circulação.

A concentração de proteína plasmática aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) com o avançar da idade. A menor média observada no primeiro mês reflete o catabolismo das imunoglobulinas que foram adquiridas passivamente do colostro materno (Husband et al., 1972; Ribeiro et al., 1983; Machado Neto et al., 1989). Após este período, há um aumento da síntese de albumina pelos hepatócitos, devido à compensação da pressão osmótica causada pela redução plasmática das globulinas colostrais. Da mesma maneira, a estabilização da concentração da proteína total reflete a produção endógena das imunoglobulinas pelo próprio bezerro (Husband et al., 1972). A concentração de fibrinogênio manteve-se estável ( $p > 0,05$ ) entre as idades avaliadas, permanecendo dentro dos valores de referência.

Na tab. 2 estão apresentados as médias e desvios padrão da porcentagem de celularidade em relação à gordura, concentração de megacariócitos por partícula e da relação mielóide:eritróide na medula óssea dos bezerros aos 30, 60 e 90 dias de idade.



Tabela 2. Porcentagens médias e desvios padrão da celularidade, concentração de megacariócitos e da relação mielóide:eritróide na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.

	Idade (dias)		
	30 (n=15)	60 (n=15)	90 (n=15)
<b>Celularidade (%)</b>	74,33 ± 6,20	72,33 ± 12,10	70,00 ± 8,20
<b>Megacariócitos</b>	6,07 <sup>a</sup> ± 2,15	4,67 <sup>b</sup> ± 1,70	4,00 <sup>b</sup> ± 1,50
<b>Relação M:E</b>	0,63 <sup>a</sup> ± 0,29	0,42 <sup>b</sup> ± 0,11	0,43 <sup>b</sup> ± 0,14

Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem estatisticamente pelo Teste T (p<0,05).

A técnica de coleta da medula óssea empregada no presente experimento resultou na presença de concentrações significativas de partículas nas amostras, o que permitiu a determinação da celularidade e da concentração de megacariócitos, obtidas no exame de várias partículas por amostra. Paes et al. (2011), ao realizarem punção aspirativa do esterno e crista ilíaca com os animais em estação, não observaram estes achados devido à presença apenas ocasional de partículas nas amostras. A porcentagem de células na medula óssea dos bezerros não foi influenciada (p>0,05) pelas idades estudadas. A celularidade apresentou valores médios de 74,33 (± 6,20), 72,33 (± 12,10) e 70,00 (± 8,20) aos 30, 60 e 90 dias, respectivamente. Segundo Jain (1993) e Cowell et al. (2009), os animais jovens possuem cerca de 25% de gordura e 75% de células. Esta proporção, que tende a diminuir com a idade, podem variar na presença de enfermidades que acometam diretamente a medula óssea ou que causem citopenias periféricas (González e Silva, 2008, Cowell et al, 2009; Stockham e Scott, 2011).

A concentração de megacariócitos na medula óssea também deve ser

critériosamente analisada, uma vez que não estão distribuídos uniformemente nas partículas presentes no esfregaço medular. Na literatura consultada não foram encontrados trabalhos que descrevessem a concentração de megacariócitos esperada para a espécie bovina. Em cães, Harvey (2001) cita uma média entre dois a sete megacariócitos por partícula. No presente experimento, a concentração média de megacariócitos variou, nas diferentes idades, entre 4,00 e 6,07 megacariócitos/partícula, com diminuição (p<0,05) e manutenção (p>0,05) das concentrações aos 60 e 90 dias, respectivamente. Segundo Jain (1993), a concentração de megacariócitos na medula óssea deve ser sempre interpretada juntamente com a contagem de plaquetas no sangue periférico, tornando-se possível uma variação fisiológica com o avançar da idade. No presente estudo a diminuição (p<0,05) das concentrações de megacariócitos foi acompanhada de diminuição (p<0,05) das concentrações das plaquetas sanguíneas que, não obstante, não resultou em correlação positiva entre os dados (p>0,05). Entretanto, foi observada correlação positiva (p<0,05) com coeficiente de

determinação de  $r=0,62$  entre a concentração de megacariócitos e de neutrófilos segmentados da medula óssea. Este achado, observado principalmente nos primeiros 30 dias, pode ser associado principalmente durante os processos inflamatórios, devido à maior demanda dos dois tipos celulares (neutrófilos e plaquetas) com hemograma característico de leucocitose por neutrofilia e trombocitose reativa (Takahira, 2003; Vecina et al., 2006). A contagem de plaquetas manteve-se dentro dos limites esperados para os bovinos adultos nos três momentos, corroborando com os achados de Mohri et al. (2007), no entanto foi significativamente maior ( $p>0,05$ ) aos 30 dias de idade. Egli e Blum (1998) e Knowles et al. (2000) observaram aumento considerável e acima dos valores de normalidade após uma semana do nascimento porém, segundo os autores, a razão para essa elevação não está esclarecida. As alterações da linhagem plaquetária, observadas no presente experimento, podem ser causadas por ajuste fisiológico, assim como, por influência da maior incidência de diarreias, somada ao estresse do manejo no primeiro mês de vida, determinaram um estímulo mais intenso à megacariopoiese e à liberação de plaquetas na circulação periférica, embora ambos permanecendo dentro do intervalo esperado para a espécie.

A relação M:E apresentou diminuição significativa ( $p<0,05$ ) com o avançar da idade, estando dentro do intervalo de referência para a espécie adulta apenas aos 30 dias. Já aos 60 e 90 dias de idade, a relação M:E apresentou valores médios abaixo do limite inferior de referência para animais adultos da espécie. Segundo Cowell et al. (2009), em uma medula com celularidade adequada, a presença de relação M:E diminuída é compatível com hiperplasia eritróide e/ou hipoplasia granulocítica. González e Silva (2008) afirmam que a fase de crescimento rápido do animal jovem esta associada à expansão do volume sanguíneo, com intensa demanda por células eritróides pela medula óssea. Além deste aumento do volume sanguíneo, observa-se, conforme os eritogramas do presente trabalho, a elevação intensa da concentração de hemácias na corrente sanguínea, que resultaram em aumento do volume globular, mesmo com a concomitante diminuição do VCM, o que também pode justificar a celularidade medular elevada em animais jovens.

As porcentagens médias e desvios padrão das células nucleadas da série eritróide na medula óssea dos bezerros aos 30, 60 e 90 dias de idade estão apresentados na tab. 3.

Tabela 3. Porcentagens médias e desvios padrão das células da série eritróide na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade.

	Idade (dias)		
	30 (n=15)	60 (n=15)	90 (n=15)
<b>Rubriblastos</b>	1,22 ± 1,00	0,91 ± 0,60	0,79 ± 0,00
<b>Prorrubrícitos</b>	1,09 <sup>ab</sup> ± 1,00	1,34 <sup>a</sup> ± 0,70	0,80 <sup>b</sup> ± 0,50
<b>Rubrícitos</b>	33,32 <sup>b</sup> ± 9,90	42,39 <sup>a</sup> ± 8,60	34,19 <sup>b</sup> ± 9,00
<b>Metarrubrícitos</b>	15,78 ± 3,00	16,44 ± 3,60	18,14 ± 3,60

Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem estatisticamente pelo Teste T (p<0,05).

Dos três tipos celulares da série eritróide de proliferação (rubriblastos, prorrubrícitos e rubrícitos), somente os primeiros não evidenciaram mudanças significativas em relação às idades. Os prorrubrícitos e rubrícitos apresentaram comportamento semelhante, com elevação (p<0,05, na variável rubrícitos) aos 60 dias e diminuição (p<0,05), em ambas variáveis, aos 90 dias. A elevação destes tipos celulares aos 60 dias, foi concomitante e portanto, determinante, para a diminuição (p<0,05) da relação M:E. A diminuição das concentrações de prorrubrícitos e rubrícitos aos 90 dias pode ter sido causada, possivelmente, por alteração na proporção de estímulo à produção de hemácias da medula óssea e o aumento da demanda causada pela expansão do volume sanguíneo, determinando na menor (p<0,05) concentração de hemácias no sangue periférico. Esta alteração pode estar relacionada à uma menor velocidade na produção e amadurecimento eritróide, possivelmente influenciado pelo decréscimo da eritropoiese (Birgel, 1982) ou devido à diminuição do volume sanguíneo ocasionada pelo aumento do ganho de peso pós desmama nos bezerros. Na média, foi

observada uma elevação do ganho de peso dos bezerros dos 30 para 60 dias de idade de 12 kg (130%) enquanto que, após a desmama, dos 60 para 90 dias, o ganho de peso médio foi de 22,8 kg (144%). Segundo Dalton e Fisher (1961), o volume de sangue do neonato é proporcionalmente maior quando comparado ao de animais adultos, diminuindo progressivamente com o aumento do peso corporal.

Os metarrubrícitos são de ocorrência rara no sangue periférico na espécie bovina, podendo aparecer em menos de 1% nos casos de anemias regenerativas discretas junto aos reticulócitos e pontilhados basofílicos (Gonzalez e Silva, 2008). Na correlação de Pearson, o mielograma revelou que a quantidade de metarrubrícitos mostrou-se significativa (p<0,05) com coeficientes de determinação de r=0,50 e 0,45 em relação aos neutrófilos e linfócitos na medula óssea, respectivamente. Isso possivelmente é caracterizado pelo fato de que quanto maior a estimulação para produção de células da série eritróide pela eritropoietina, menor será o estímulo de produção das células da série mielóide e linfocítica na medula óssea.

As porcentagens médias e desvios padrão das células nucleadas da série

mielóide na medula óssea dos bezerros aos 30, 60 e 90 dias de idade estão apresentadas na tab. 4.

Tabela 4. Porcentagens médias e desvios padrão da série mielóide na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade

	Idade (dias)		
	30 (n=15)	60 (n=15)	90 (n=15)
<b>Mielolastos</b>	0,66 ± 0,30	0,63 ± 0,50	0,52 ± 0,30
<b>Promielócito</b>	0,78 ± 0,00	0,83 ± 0,40	0,85 ± 0,60
<b>Neutrófilo mielócito</b>	2,17 ± 0,90	1,81 ± 0,70	1,75 ± 0,80
<b>Neutrófilo metamielócito</b>	2,67 ± 2,00	2,43 ± 1,40	2,35 ± 1,30
<b>Neutrófilo bastonete</b>	5,86 <sup>a</sup> ± 2,50	4,32 <sup>b</sup> ± 1,90	3,84 <sup>b</sup> ± 1,10
<b>Neutrófilo segmentado</b>	15,33 <sup>a</sup> ± 3,77	9,75 <sup>b</sup> ± 3,64	12,01 <sup>b</sup> ± 3,40
<b>Eosinófilo mielócito</b>	0,99 ± 0,50	1,23 ± 0,90	1,20 ± 0,70
<b>Eosinófilo metamielócito</b>	1,11 <sup>b</sup> ± 0,40	1,51 <sup>a</sup> ± 0,60	0,94 <sup>b</sup> ± 0,60
<b>Eosinófilo bastonete</b>	1,28 ± 0,60	1,53 ± 0,70	1,25 ± 0,50
<b>Eosinófilo segmentado</b>	1,31 ± 0,90	0,99 ± 0,70	0,89 ± 0,60
<b>*Basófilos</b>	0,00 (0 – 0,40)	0,00 (0 – 0,20)	0,00 (0 – 0,20)

Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem estatisticamente pelo Teste T (p<0,05). \*Medianas (mínimo – máximo) seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem estatisticamente pelo Teste Kruskal-Wallis (p<0,05).

<sup>1</sup>Bovinos adultos (Jain, 1993)

\*\*Valores correspondentes à eosinófilos totais

As células da série mielóide do compartimento de proliferação (mieloblastos, promielócitos e mielócitos) não sofreram influência (p>0,05) do fator etário. Assim como a série eritróide, a distribuição mielóide permaneceu piramidal, com concentração das células precursoras iniciais (mieloblastos) acima dos valores de referência. Das células dos compartimentos de maturação e reserva, somente os neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados e os eosinófilos metamielócitos diferenciaram

significativamente (p<0,05) em relação às idades. As porcentagens médias dos dois tipos de neutrófilos foram significativamente maiores (p<0,05) no primeiro mês quando comparada aos 60 e 90 dias de idade. Na espécie bovina, os primeiros meses são caracterizados por uma maior concentração de neutrófilos na circulação periférica em relação aos linfócitos, invertendo esta proporção com o avançar da idade (Jain, 1993). No presente experimento, embora não tenham ocorrido alterações (p>0,05) nas concentrações sanguíneas

dos leucócitos e neutrófilos, foi observada inversão na proporção neutrófilos:linfócitos, aos 60 dias que, entretanto, não alteraram estatisticamente a relação N:L.

Aos 30 dias de idade, da linhagem neutrofílica diferenciável, as concentrações de mielócitos e metamielócitos encontraram-se abaixo do limite inferior de referência. Aos 60 dias, esta condição foi ampliada aos bastonetes e segmentados. A diminuição deste último tipo celular é classificada como baixo compartimento de reserva e, normalmente está associado ao aumento da demanda periférica (Jain, 1993). No presente caso, entretanto, é possível que esta diminuição seja compensada pela alta celularidade do animal jovem, sendo, portanto, apenas proporcional e, desta forma, não predispondo o animal à maior susceptibilidade ao desvio a esquerda dos neutrófilos sanguíneos (Thrall et al., 2007; Cowell et al., 2009).

Apesar de verificada uma maior concentração ( $p < 0,05$ ) de eosinófilos no sangue periférico (tab. 1) aos 60 e 90 dias de idade, a contagem de eosinófilos mielócitos, bastonetes e segmentados na

medula óssea não variaram ( $p > 0,05$ ), ao contrário dos metamielócitos, que apresentaram maiores médias ( $p < 0,05$ ) no segundo mês de vida. No entanto, nota-se uma tendência crescente das células precursoras de maturação (eosinófilos mielócitos, metamielócitos e bastonetes) e decrescente de eosinófilos segmentados, já que estes são os mais comumente liberados para a circulação periférica. Muito embora a concentração de basófilos no mielograma não tenha diferenciado ( $p > 0,05$ ) entre as três idades, observa-se uma elevação significativa ( $p < 0,05$ ) de sua contagem no sangue periférico no terceiro mês de vida, quando comparado ao primeiro, condizendo com os achados de Holman (1956), Biondo (1996) e Fagliari et al. (1998) que notaram elevação na contagem com o avançar da idade. Contudo, o número absoluto de basófilos apresentou-se inexpressivo, variando pouco durante o desenvolvimento etário, como já discutido anteriormente.

As médias e desvios padrão das porcentagens de monócitos/macrófagos, linfócitos e plasmócitos na medula óssea dos bezerros aos 30, 60 e 90 dias de idade estão apresentadas na tab. 5.

Tabela 5. Porcentagens médias e desvios padrão das células da série monocítica e linfocítica na medula óssea de bezerros da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade

	Idade (dias)		
	30 (n=15)	60 (n=15)	90 (n=15)
<b>Monócitos/ Macrófagos</b>	0,42 ± 0,40	0,41 ± 0,31	0,26 ± 0,27
<b>Linfócitos</b>	1,70 ± 0,50	2,00 ± 0,60	1,90 ± 0,55
<b>Plasmócitos</b>	0,21 ± 0,19	0,27 ± 0,24	0,21 ± 0,07

Os outros tipos celulares comumente observados no mielograma são os monócitos, macrófagos linfócitos e plasmócitos. Em comparação com as das séries eritróide e mielóide, estas células estão em menor concentração na medula óssea. Os monócitos, tanto do hemograma quanto do mielograma não apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) em relação às idades. Em ambos os exames, a quantidade permaneceu dentro do intervalo esperado para a espécie adulta, exceto aos 90 dias de idade que, na citologia de medula óssea, apresentou valores ligeiramente abaixo do limite inferior. Já para os linfócitos, apesar da concentração no sangue periférico ter aumentado significativamente ( $p<0,05$ ) aos 90 dias, quando comparado ao primeiro mês, a porcentagem média da célula na medula óssea permaneceu igual nos três momentos avaliados. O linfócito, na espécie bovina adulta, é o leucócito predominante. Como verificado na tab. 1, a concentração de linfócitos foi superior aos dos neutrófilos aos dois meses de idade, com relação N:L de 0,95 ( $\pm 0,61$ ). A quantidade de plasmócitos variou pouco, permanecendo com valores próximos ao limite inferior para espécie adulta, não apresentando diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre as três idades. Deve-se ressaltar que os linfócitos e plasmócitos estão presentes em número relativamente pequenos na medula óssea. Isso ocorre, pois, logo após a maturação no tecido hematopoiético de células destinadas a se tornarem linfócitos B, estas migram para tecidos linfóides como baço, timo e linfonodos, ao passo que as células destinadas a se tornarem linfócitos T

são maturadas nestes locais (Stockham e Scott, 2011).

## CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento e de acordo com os resultados obtidos, podem ser apresentadas as seguintes conclusões para bezerros machos da raça Holandesa aos 30, 60 e 90 dias de idade:

A técnica de coleta do fragmento direto de medula óssea permitiu, pela presença da quantidade de partículas, a avaliação da celularidade e da concentração de megacariócitos.

Ocorre hiperplasia eritróide transitória observada no segundo mês de vida. Como não ocorreu variações significativas nas concentrações de leucócitos totais e neutrófilos, a alteração observada na relação M:E, pode ser atribuída principalmente à hiperplasia eritróide.

A linhagem neutrofílica medular oscila pelo limite inferior, possivelmente pelo baixo pool de reserva ou pela redução relativa causada pela alta celularidade medular neste período, não determinando em maior susceptibilidade ao desvio à esquerda sanguíneo.

As concentrações de linfócitos, eosinófilos e basófilos aumentam com o avanço da idade, sem comprometer a leucometria total, sendo observado inversão da relação N:L aos 60 dias de idade, decorrente do aumento de linfócitos circulantes.

As concentrações de megacariócitos e de plaquetas sanguíneas tem alterações concomitantes e proporcionais, podendo

ser caracterizados como uma menor produção e/ou menor liberação, respectivamente, com o avançar da idade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENESI, F.J.; TEIXEIRA, C.M.C; LISBOA, J.A.N et al. Eritrograma de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. n. 32, v. 4, p. 357 – 360, 2012.

BIONDO A.W. Hemograma de bovinos sadios da raça Nelore no primeiro mês de vida, criados no Estado de São Paulo: influência de fatores etários e sexuais. (Dissertação de Mestrado). Rio Grande do Sul – Universidade Federal de Santa Maria. 76 p., 1996.

BIRGEL, E.H. Técnicas hematológicas de uso corrente em patologia clínica veterinária. **Patologia Clínica Veterinária**, Sociedade Paulista Veterinária, p.7-23, 1982.

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.

CALHOUN, M.L. Bone Marrow of Horses and Cattle. *Science*, v.104, 423 p., 1946.

COWELL, R.L. TYLER, R.D.; MEINKOTH, J.H., et al. Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos. 3ªed. Ed. MedVet. p. 423-451, 2009.

DALTON, R.G.; FISHER, E.W. Plasma and blood volumes in Ayrshire cattle. *British Veterinary Journal*. p. 115 – 117, 1961.

EGLI, C.P.; BLUM, J.W. Clinical, haematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling Simentaler calves held in a cow-calf operation. *Journal of Veterinary Medicine*. v.45, p. 99 – 118, 1998.

FAGLIARI, J.J., SANTANA, A.E., LUCAS, F.A., et al. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.50, n.3, p.253-262, 1998.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Patologia clínica veterinária: texto introdutório. Porto Alegre - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 342 p., 2008.

HARVEY, J.W. Atlas of Veterinary Hematology: Blood and Bone Marrow of Domestic Animals. Philadelphia: Saunders, 228 p., 2001.

HOLMAN, H.H. Changes associated with age in the blood picture of calves and heifers. *British Veterinary Journal*. v. 12, p. 91–104, 1956.

HUSBAND, A. J.; BRANDON, M. R.; LASCELLES, A. K. Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, Adelaide, v. 50, n. 4, p. 491-498, 1972.

JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, First Edition. Cap. 7. p.178 - 207, 1986.

JAIN, N.C. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, 417p., 1993.

JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice*, v.23, p. 377-402, 2007.

- KANEKO, J.J., SMITH, H. The estimation of plasma fibrinogen and its clinical significance in the dog. *The California Veterinarian*, v. 21, n.4, p. 21 – 24, 1967.
- KNOWLES T.G.; EDWARDS J.E.; BAZELEY, K.J. et al. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*. v. 147, p. 593–598, 2000.
- LEE C.K.; ODELL G.V.; ELIOT F.P. et al. Postnatal loss of bovine fetal hemoglobin. *American Journal Veterinary Research*. v:32, p. 1039–1044, 1971.
- MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; SUSIN, I. Concentração de imunoglobulina sérica, peso corporal e diarreia em bezerros da raça holandesa aleitados com diferentes dietas. Turrialba, Costa Rica, v.39, n.1, p.51-55, 1989.
- 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, p.30-39, 2007.
- PAES, P.R.O.; VELOSO, L.B; SANTOS. et al. Citologia de medula óssea das primeiras seis semanas de vida de bovinos da raça Holandesa. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.2, p. 499 – 502, 2011.
- RASKIN R.E. Myelopoiesis and Myeloproliferative Disorders. In: Raskin RE, Meyer DJ. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, Update on Clinical Pathology*. Philadelphia: WB Saunders; v. 26 (5), p. 1023-1042, 1996.
- RIBEIRO, M.F.B; BELÉM, P.A.D.; PARARROYO, J.H.
- Hipogamaglobulinemia em bezerros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.35, n.4, p.537-546, 1983.
- ROCHA, T.G.; FRANCIOSI, C.; NOCITI, R.P. et al. Hemograma e proteínas do soro sanguíneo de bezerros Canchim-Nelore e da raça Holandesa nos primeiros 30 dias de vida. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.5, p.1250-1254, 2010.
- SCHALM, O.W.; JAIN, H.J.; CARROL, E.J. *Veterinary Hematology*. 3ª ed. Philadelphia. Ed. Lea & Febiger, p. 122 – 143. 1975.
- STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. *Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária*. 2ª ed. Ed. Guanabara Koogan, 729 p., 2011.
- TAKAHIRA, R. K. Hemostasia Veterinária. In: F.H.D, González e Campos, R. *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre – Univerisade Federal do Rio Grande do Sul. p. 49 – 64, 2003.
- THRALL, M.A. et al. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Ed. Roca. p. 170 – 184, 2007.
- VECINA, J.F.; PATRÍCIO, R.F.; CIARLINI, P.C. Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães. *Ciência Veterinária nos Trópicos*. Recife – PE. v. 9, n.1, p. 31 – 35, 2006.
- WILDE, J.K.H. The celular elements of the bovine bone marrow. *Research in Veterinary Science*. 5:213, 1964.



## **Artigo 2 – Perfil hematológico de bezerros machos da raça Holandesa: influência dos fatores etário e nutricional**

*[Article 2 - Hematological profile of Holstein male calves: influence of age and nutritional factors]*

### **RESUMO**

Objetivou-se no presente trabalho avaliar a influência dos fatores etários e nutricionais sobre o perfil hematológico de 30 bezerros machos da raça Holandesa. Para tal, foram coletadas amostras de sangue aos cinco, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias de idade. Os bezerros foram divididos em cinco grupos de acordo com a quantidade de sucedâneo/dia e com a granulometria da ração concentrada. O desaleitamento ocorreu de forma abrupta aos 60 dias de idade. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo Teste SNK com 5% de significância. No eritrograma observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação à contagem de hemácias, volume globular e concentração de hemoglobina. Todos os índices hematimétricos evidenciaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) somente em relação aos momentos. No leucograma foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação às idades para leucócitos totais, principalmente aos 15 e 30 dias e para linfócitos, que aumentou com o avançar da idade. Os neutrófilos segmentados apresentaram interação significativa ( $p < 0,05$ ) em relação aos grupos e momentos, provavelmente ocasionados por fatores extranutricionais, como diarreias, infecções umbilicais e estresse do manejo. A concentração de plaquetas também foram maiores ( $p < 0,05$ ) aos 15 e 30 dias de idade. O desaleitamento não influenciou ( $p > 0,05$ ) as variáveis estudadas. Concluiu-se que o perfil hematológico pode ser influenciado por fatores etários, porém o desafio enfrentado pelos bezerros, principalmente no primeiro mês de vida, não permitem concluir a influência nutricional nos parâmetros avaliados.

Palavras-chave: bezerros, gado Holandês, eritrograma, leucograma, fator etário.

### **ABSTRACT**

*The objective of the present study was to evaluate the influence of age and nutrition on hematological profile in 30 Holstein male calves. To this purpose, blood samples were collected at times five, 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days old. The calves were divided into five groups according to amount of milk replace/day and the particle size of the concentrate. Weaning occurred abruptly at 60 days of age. The experiment was conducted in a completely randomized design and means were compared in SNK test at 5% probability. In red blood cell (RBC) count obtained significant difference ( $p < 0,05$ ) in respect to erythrocyte count, packed cell volume and hemoglobin concentration. All RBC indices showed a statistical difference ( $p < 0,05$ ) only in relation to the moments. In white blood cell (WBC) were significant differences ( $p < 0,05$ ) against age for total leukocytes, especially at 15 and 30 days and for lymphocytes, which increased with*

*advancing age. The segmented neutrophils showed a significant interaction ( $p < 0,05$ ) in relation to groups and times, probably caused by extra nutritional factors, such as diarrhea, umbilical infections and stress management. The platelet concentration were also higher ( $p < 0,05$ ) at 15 and 30 days of age. The age factor influenced significantly ( $p < 0,05$ ) proteinogram, showing different behaviors between albumin and globulin. The fibrinogen concentration showed a significant difference ( $p < 0,05$ ) in relation to groups and moments, showing higher mean values at 15 days of age. Weaning did not affect ( $p > 0,05$ ) in the variables studied, except for fibrinogen. It was concluded that the hematologic profile can be influenced by age, but the challenges facing calves, especially in the first month of life, do not indicate the influence nutritional parameters evaluated in this period.*

*Keywords: calves, Holstein cattle, erythrogram, leukogram, age factor.*

## INTRODUÇÃO

A alimentação adequada dos bovinos, por ser fundamental para o desenvolvimento dos animais e representar 50 a 60% dos custos de produção, é um dos maiores desafios da pecuária leiteira e de carne. A quantidade de leite e a quantidade e qualidade da ração fornecida podem influenciar a fisiologia, imunologia e comportamento dos bezerros, que determinam a produtividade da criação. A ração é fundamental, entre outros fatores, para o desenvolvimento adequado do rumem, com granulações compostas por partículas maiores resultando em melhor digestibilidade. Por outro lado, o fornecimento de leite em grandes quantidades resulta em menor consumo de concentrado e consequentemente pode estar relacionado ao menor desenvolvimento ruminal (Davis e Drackley, 1998).

A quantidade e qualidade dos alimentos, assim como as condições ambientais e regionais, o tipo de criação, higiene, condições de solo, variações estacionais, número de animais, raça, idade, sexo e condições patológicas

subclínicas, pode influenciar os constituintes sanguíneos dos bezerros (Jain, 1993; Galindo et al., 2009; Reginfo et al., 2010).

A habilidade em interpretar os resultados é baseada no conhecimento sobre os mecanismos fisiológicos normais do animal e com o que ocorre quando o mesmo apresenta uma enfermidade (Jones e Allison, 2007; Mohri et al., 2007). Estima-se que, na criação de bezerros, 75% das perdas até um ano de idade ocorram durante o primeiro mês de vida. Os pontos mais importantes e críticos para a criação dos bezerros são as instalações, o fornecimento do colostro, a cura do umbigo, o fornecimento da dieta líquida e o desenvolvimento do rúmen. A observação destes pontos demonstra que é necessária a integração do manejo da alimentação e do ambiente para obtenção de bezerros saudáveis (Goodger e Theodore, 1986). Caso contrário, doenças como pneumonias, tristeza parasitária e infecções umbilicais podem se tornar mais frequentes. A inflamação do umbigo é uma das mais importantes doenças do bezerro neonato que, além de causarem

alterações hematológicas, principalmente no leucograma, levam a mortalidade superior a 10% nos animais até oito meses (Radostits et al., 2002) e à perdas de aproximadamente 25% no seu desempenho produtivo em relação a outros animais da mesma idade (Coelho, 2005).

Além disso, a idade é um fator importante a ser considerado para interpretação do hemograma, especialmente do volume globular, leucograma e proteinograma que, em geral, são influenciados pela absorção do colostro (Jain, 1993). De certo modo, os parâmetros hematológicos para os bovinos geralmente são baseadas nas amostras obtidas de animais adultos e podem não condizer caso sejam utilizados para interpretar valores de bezerros (Brun-Hansen et al., 2006). Embora vários estudos tenham avaliado a influência nos componentes sanguíneos de fatores como raça, sexo, idade e fatores ambientais (Jain, 1993; Fagliari et al., 1998; Mohri et al., 2007; Galindo et al., 2009; Reginfo et al., 2010; Benesi et al., 2012), há escassez de trabalhos abordando a correlação da nutrição com a hematologia.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da idade e de três estratégias de aleitamento, com sucedâneo, e três diferentes granulometrias da ração concentrada, à base de milho, sobre o perfil hematológico em bezerros da raça Holandesa até 90 dias.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Todos os procedimentos realizados nesta pesquisa foram aprovados pelo

comitê de ética CETEA-UFMG (protocolo n° 44/2009).

Foram utilizados 30 bezerros machos da raça Holandesa, criados em um bezerreiro do tipo argentino, localizado na Escola de Veterinária da UFMG. Todos os animais foram aleitados com no mínimo dois litros de colostro logo após o nascimento. Os bezerros foram distribuídos em cinco grupos experimentais cada um com seis animais, de acordo com as seguintes estratégias alimentares: grupo C4/4 (alimentaram-se de ração concentrada farelada à base de milho + quatro litros de sucedâneo/dia); grupo C6/4 (alimentaram-se de ração concentrada farelada à base de milho + seis litros de sucedâneo/dia até 29 dias e quatro litros/dia até 60 dias de idade); grupo C6/6 (alimentaram-se de ração concentrada farelada à base de milho + seis litros de sucedâneo/dia); grupo MF4/4 (alimentaram-se de ração concentrada floculada à base de milho + quatro litro de sucedâneo/dia) e grupo MG 4/4 (alimentaram-se de ração concentrada milho grosso + quatro litros de sucedâneo/dia). A quantidade total de sucedâneo foi fornecida em duas porções, sendo uma pela manhã e outra pela tarde. A desmama foi realizada de forma abrupta aos 60 dias de idade. O concentrado à base de milho foi oferecido conforme a ingestão diária de cada bezerro.

O exclusão de hemoparasitos foi realizada em amostras com volume globular abaixo de 20%, através da análise de esfregaço de sangue da ponta de orelha em microscopia óptica. As amostras de sangue foram obtidas

através da venopunção jugular sendo condicionadas em tubos de 5ml contendo anticoagulante EDTA à 10%. A primeira coleta foi realizada a partir do quinto dia de vida de cada bezerro. As coletas subsequentes foram realizadas aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após o nascimento, totalizando sete momentos. As coletas de sangue foram estabelecidas como primeiro manejo durante o dia no bezerreiro, sendo realizada logo pela manhã, antes do fornecimento do sucedâneo. Os esfregaços sanguíneos foram confeccionados logo após a coleta e corados posteriormente com corante hematológico rápido<sup>1</sup>. A contagem celular foi realizada em contador automático tipo impedância<sup>2</sup>, padronizado para a espécie em estudo. A contagem diferencial de leucócitos e avaliação morfológica dos tipos celulares foram realizados em microscópio óptico. O volume globular foi obtido pela técnica do microhematócrito.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em arranjo de parcelas subdivididas. As parcelas foram constituídas por cinco diferentes manejos alimentares, com seis repetições (animais) por dieta, e as subparcelas compostas por sete momentos de avaliação (idades). As variáveis foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) com 5% de significância.

Para comparação entre as médias das variáveis que apresentaram diferença

significativa ( $p < 0,05$ ) na interação entre tratamentos (grupos) e momentos (idades), os grupos “sucedâneo de leite” e “granulometria da ração” foram analisados **separadamente**.

Para comparação entre as médias das variáveis que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) **somente entre os momentos** (idades), os cinco grupos foram analisados como um único tratamento, diferenciando-os apenas na média geral.

Para comparação entre as médias das variáveis que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) **somente entre os tratamentos** (grupos), os sete momentos foram analisados como uma única idade, diferenciando-os apenas na média geral.

Ressalta-se ainda que o grupo C4/4 é **comum** tanto para “sucedâneo de leite” quanto para “granulometria da ração”.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das médias e desvio padrão da contagem de hemácias ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ), concentração de hemoglobina (g/dL) e volume globular (%) estão apresentadas na tab. 1. Objetivou-se a comparação entre os grupos conforme o volume de sucedâneo ingerido por dia, separadamente aos grupos que se alimentaram de rações concentradas com diferentes tamanhos de partículas. As três variáveis que compõe os parâmetros eritrocitários apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na interação entre os grupos e momentos. Entretanto, os índices hematimétricos

---

<sup>1</sup> Panótico Newprov®

<sup>2</sup> Abacus Vet Júnior Diatron®

variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) somente em relação aos momentos.

Tabela 1. Valores das médias e desvios padrão da contagem de hemácias ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) de bezerras da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

		Hemácias ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )						
Grupos (n=6)		Momentos (dias)						
		5	15	30	45	60	75	90
Sucedâneo	C4/4	9,95 <sup>Aa</sup> ± 2,56	9,91 <sup>Aa</sup> ± 1,89	10,28 <sup>Aa</sup> ± 1,64	10,12 <sup>ABa</sup> ± 2,06	10,03 <sup>ABa</sup> ± 1,60	9,76 <sup>Aa</sup> ± 0,85	9,57 <sup>Aa</sup> ± 0,70
	C6/4	6,95 <sup>Bb</sup> ± 0,95	7,93 <sup>Bab</sup> ± 0,68	7,65 <sup>Bab</sup> ± 0,73	9,04 <sup>Bab</sup> ± 1,04	9,61 <sup>Ba</sup> ± 0,92	9,78 <sup>Aa</sup> 0,75	9,23 <sup>Aab</sup> ± 1,00
	C6/6	7,64 <sup>Bb</sup> ± 1,86	8,59 <sup>ABb</sup> ± 1,26	9,81 <sup>ABab</sup> ± 2,50	11,17 <sup>Aa</sup> ± 1,03	11,42 <sup>Aa</sup> ± 1,37	10,83 <sup>Aa</sup> ± 0,96	9,75 <sup>Aab</sup> 0,50
Ração	C4/4	9,95 <sup>Aa</sup> ± 2,56	9,91 <sup>Aa</sup> ± 1,89	10,28 <sup>Aa</sup> ± 2,64	10,12 <sup>Aa</sup> ± 2,06	10,03 <sup>Aa</sup> ± 1,60	9,76 <sup>Aa</sup> ± 0,85	9,57 <sup>Aa</sup> ± 0,70
	MF4/4	7,35 <sup>Bb</sup> ± 1,00	9,28 <sup>Aab</sup> ± 1,19	9,62 <sup>Aab</sup> ± 1,98	10,41 <sup>Aa</sup> ± 1,85	10,32 <sup>Aa</sup> ± 1,48	9,57 <sup>Aab</sup> ± 2,56	9,63 <sup>Aab</sup> ± 1,64
	MG4/4	7,43 <sup>Ba</sup> ± 1,20	8,94 <sup>Aa</sup> ± 1,23	9,55 <sup>Aa</sup> ± 1,25	9,55 <sup>Aa</sup> ± 1,09	9,75 <sup>Aa</sup> ± 0,74	9,64 <sup>Aa</sup> ± 0,81	9,45 <sup>Aa</sup> ± 1,13

Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

Tabela 2. Valores das médias e desvios padrão da concentração de hemoglobina (g/dL) de bezerras da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

		Hemoglobina (g/dL)						
Grupos (n=6)		Momentos (dias)						
		5	15	30	45	60	75	90
Sucedâneo	C4/4	11,45 <sup>Aa</sup> ± 2,72	10,71 <sup>Aa</sup> ± 2,36	10,85 <sup>Aa</sup> ± 2,98	10,32 <sup>ABa</sup> ± 2,36	10,22 <sup>Aa</sup> ± 1,71	9,63 <sup>Aa</sup> ± 0,51	9,50 <sup>Aa</sup> ± 0,77
	C6/4	7,67 <sup>Bb</sup> ± 1,26	8,50 <sup>Bab</sup> ± 1,23	7,67 <sup>Bb</sup> ± 0,98	9,03 <sup>Ba</sup> ± 1,04	9,85 <sup>Aa</sup> ± 0,88	10,13 <sup>Aa</sup> ± 0,84	9,35 <sup>Aa</sup> ± 0,68
	C6/6	8,97 <sup>Ba</sup> ± 1,97	9,77 <sup>ABa</sup> ± 1,41	10,20 <sup>Aa</sup> ± 1,84	11,10 <sup>Aa</sup> ± 0,72	11,12 <sup>Aa</sup> ± 0,81	10,73 <sup>Aa</sup> ± 0,57	9,62 <sup>Aa</sup> ± 0,29
Ração	C4/4	11,45 <sup>Aa</sup> ± 2,72	10,71 <sup>Aa</sup> ± 2,36	10,85 <sup>Aa</sup> ± 2,98	10,32 <sup>Aa</sup> ± 2,36	10,22 <sup>Aa</sup> ± 1,71	9,63 <sup>Aa</sup> ± 0,51	9,50 <sup>Aa</sup> ± 0,77
	MF4/4	8,38 <sup>Ba</sup> ± 1,15	9,60 <sup>Aa</sup> ± 1,24	9,85 <sup>Aa</sup> ± 1,86	10,30 <sup>Aa</sup> ± 1,57	10,23 <sup>Aa</sup> ± 0,92	9,80 <sup>Aa</sup> ± 1,55	9,98 <sup>Aa</sup> ± 0,85
	MG4/4	8,95 <sup>Ba</sup> ± 1,62	10,50 <sup>Aa</sup> ± 1,58	10,35 <sup>Aa</sup> ± 1,49	9,97 <sup>Aa</sup> ± 1,11	10,33 <sup>Aa</sup> ± 1,06	10,11 <sup>Aa</sup> ± 1,27	10,10 <sup>Aa</sup> ± 1,44

Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

Tabela 3. Valores das médias e desvios padrão do volume globular (%) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

		Volume globular (%)						
	Grupos (n=6)	Momentos (dias)						
		5	15	30	45	60	75	90
Sucedâneo	C4/4	36,67 <sup>Aa</sup> ± 8,21	34,50 <sup>Aab</sup> ± 6,65	33,67 <sup>Aab</sup> ± 7,20	32,17 <sup>Aab</sup> ± 7,17	31,17 <sup>Aab</sup> ± 4,57	29,83 <sup>Aab</sup> ± 1,32	28,17 <sup>Ab</sup> ± 1,72
	C6/4	25,75 <sup>Bb</sup> ± 2,98	28,25 <sup>Aa</sup> ± 2,98	28,17 <sup>Aa</sup> ± 2,48	29,00 <sup>Aa</sup> ± 2,45	30,00 <sup>Aa</sup> ± 3,85	30,67 <sup>Aa</sup> ± 2,25	28,67 <sup>Aa</sup> ± 2,73
	C6/6	29,50 <sup>ABa</sup> ± 6,35	31,17 <sup>Aa</sup> ± 3,12	32,50 <sup>Aa</sup> ± 4,55	34,50 <sup>Aa</sup> ± 2,34	34,00 <sup>Aa</sup> ± 2,75	32,00 <sup>Aa</sup> ± 1,26	29,83 <sup>Aa</sup> ± 1,83
Ração	C4/4	36,67 <sup>Aa</sup> ± 8,21	34,50 <sup>Aab</sup> ± 6,65	33,67 <sup>Aab</sup> ± 7,20	32,17 <sup>Aab</sup> ± 7,17	31,17 <sup>Aab</sup> ± 4,57	29,83 <sup>Aab</sup> ± 1,32	28,17 <sup>Ab</sup> ± 1,72
	MF4/4	27,17 <sup>Ba</sup> ± 4,07	29,67 <sup>Aa</sup> ± 3,07	31,83 <sup>Aa</sup> ± 5,94	33,17 <sup>Aa</sup> ± 4,21	31,33 <sup>Aa</sup> ± 2,06	30,83 <sup>Aa</sup> ± 3,87	30,17 <sup>Aa</sup> ± 1,72
	MG4/4	28,67 <sup>ABa</sup> ± 4,76	33,33 <sup>Aa</sup> ± 3,88	33,00 <sup>Aa</sup> ± 4,33	30,83 <sup>Aa</sup> ± 3,06	30,83 <sup>Aa</sup> ± 1,94	30,00 <sup>Aa</sup> ± 2,28	30,00 <sup>Aa</sup> ± 2,53

Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

As três variáveis que compõe os parâmetros eritrocitários apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na interação entre os grupos e momentos. As divergências observadas no primeiro momento (cinco dias) ocorreram por variações individuais causadas por fatores extras nutricionais, como desidratação e estresse, uma vez que o manejo alimentar ainda não havia sido instituído.

Em relação ao tratamento sucedâneo, aos cinco dias de idade, 4/6 (66,7%) bezerros do grupo C4/4 apresentaram contagem de hemácias, concentração de hemoglobina, e volume globular entre 9,6 e 13,0 x 10<sup>6</sup>/μl; 10,7 e 14,8 g/dL e entre 35 e 47%, respectivamente,

mostrando-se bem superiores aos valores observados nos outros grupos. Conforme Thrall et al. (2007), duas possíveis causas para o aumento destes parâmetros eritrocitários são o estresse ou a desidratação, levando como consequências a liberação de epinefrina e contração esplênica ou redução do volume plasmático, respectivamente. Estas causas de policitemias relativas geralmente não aumentam o volume globular acima de 60%. Ao contrário do grupo C4/4, 66,7% (4/6) dos bezerros do grupo C6/4, aos cinco dias, apresentaram contagem de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular entre 5,5 e 7,3 x 10<sup>6</sup>/μl; 6,3 e 7,7 g/dL e entre 22 e 26%, respectivamente. Para Tennant et al.

(1974), às diferentes intensidades do efeito diluidor da água absorvida no colostro pelo maior volume ingerido, além da renovação inadequada das células fetais, podem gerar a chamada “anemia fisiológica”. A partir dos 15 dias, a concentração de hemácias dos grupos C4/4 e C6/6 se igualaram ( $p > 0,05$ ), ao contrário do grupo C6/4 que, assim como no primeiro momento, manteve sua média inferior. Com isso, a diferença continuou significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos C4/4 e C6/4 nos momentos aos 15 e 30 dias e entre os grupos C6/4 e C6/6 nos momentos 45 e 60 dias de idade. Esta divergência não pôde ser atribuída à quantidade de sucedâneo uma vez que, apesar dos grupos C4/4 e C6/6 ingerirem quatro e seis litros diários, respectivamente, não se observou diferença ( $p > 0,05$ ) do número de hemácias entre eles a partir da segunda semana de vida. Em relação aos momentos, somente o grupo C4/4 não revelou diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Os outros grupos evidenciaram comportamentos semelhantes, no qual a contagem de hemácias foi menor aos cinco dias, elevando-se consideravelmente ( $p < 0,05$ ) aos 45 e 60 dias de idade nos grupos C6/6 e C6/4, respectivamente. Assim como no presente trabalho, Fagliari et al. (1998) e Benesi et al. (2012) não observaram diferença significativa nesta variável durante o primeiro mês de vida para bezerros da raça Holandesa.

Em relação à granulometria da ração, a diferença observada entre os grupos ocorreu apenas no momento M5, quando os bezerros do grupo C4/4 apresentaram valores médios

eritrocitários superiores ( $p < 0,05$ ) aos do MF4/4 e MG4/4, devido aos fatores já discutidos anteriormente. Somente o grupo MF4/4 demonstrou diferença marcante entre os momentos, semelhante aos verificados nos grupos sucedâneo C6/4 e C6/6, em que a concentração de hemácias foi menor aos cinco dias para aumentar significativamente ( $p < 0,05$ ) aos 45 dias de idade. Esta observação pode ser justificada considerando-se a renovação das hemácias fetais dos bezerros e pelo maior estímulo da eritropoiese na medula óssea nos primeiros meses de vida (Tennant, 1974; Jain 1993). Este comportamento também foi observado por outros autores na avaliação do eritrograma bovino de diversas raças (Birgel Jr, 1991; Távora, 1997). Após a desmama, nenhum dos grupos revelou diferenças na concentração de hemácias que, por sua vez, mantiveram-se superiores a  $9,0 \times 10^6/\mu\text{l}$ .

Nota-se, nas tab. 1 e 2, que o comportamento da concentração de hemoglobina foi idêntico ao verificado para contagem de hemácias, tanto para o tratamento sucedâneo quanto para granulometria da ração, até os 45 dias de idade. Entretanto, somente o grupo C6/4 apresentou diferença na concentração de hemoglobina em relação às idades, nos quais as médias permaneceram baixas até os 30 dias para, posteriormente, elevar-se consideravelmente ( $p < 0,05$ ) aos 45 dias da idade e estabilizar. Esta discrepância pode ser atribuída pelos menores valores encontrados para concentração de hemácias e volume globular no grupo, principalmente no primeiro mês de vida.

Assim como observado para contagem de hemácias e concentração de hemoglobina, o volume globular obteve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, apesar de não relacionada aos fatores nutricionais, apenas aos cinco dias de idade. Para o sucedâneo, a diferença foi verificada entre os grupos C4/4 e C6/4. Já para granulometria da ração, a discrepância foi entre os grupos C4/4 e MF4/4. As divergências observadas entre os momentos só foram verificadas nos grupos C4/4 e C6/4, porém com características distintas. O C4/4 apresentou sua maior média aos cinco dias de idade, mantendo-se constante até diminuir significativamente ( $p < 0,05$ ) aos 90 dias. Fagliari et al. (1998) encontraram comportamento semelhante, em que o volume globular foi maior ao nascimento, porém com diminuição mais precoce, aos 45 dias de idade. Em contrapartida, no C6/4, verificou-se a menor média aos cinco dias de idade, elevando-se consideravelmente ( $p < 0,05$ ) aos 15 dias, para manterem-se equivalentes até o final do período experimental. Resultados semelhantes foram observados por Paes et al. (2011) no qual as menores porcentagens da

variável foram detectadas aos quatro dias de idade, para posteriormente aumentar significativamente aos 14 dias e estabilizar. Estes resultados indicam que, apesar de possíveis variações nas contagens de hemácias, o volume que estas células ocupam no sangue permanece relativamente constante. Para tal, é necessário que ocorra diferença no volume dos eritrócitos que devem, teoricamente, alterar os índices que estimam o volume destas células, como o VCM e o RDW. No presente estudo, houve correlação positiva e significativa ( $p < 0,05$ ), entre concentração de hemácias e volume globular, com coeficiente de determinação de  $r = 0,84$ .

As médias e desvios padrão dos resultados obtidos para volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e amplitude de variação do volume das hemácias (RDW) estão apresentados nas tab. 4 a 6. As análises de regressão e coeficientes de determinação para as variáveis VCM e CHCM estão apresentadas nas fig. 1 e 2, respectivamente.



Tabela 4. Valores das médias e desvios padrão do Volume Corpuscular Médio (fL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

Grupos (n=6)	VCM (fL)						
	Momentos (dias)						
	5	15	30	45	60	75	90
<b>C4/4</b>	37,25 ± 3,42	34,92 ± 2,97	33,02 ± 2,23	31,54 ± 1,81	31,15 ± 2,20	30,72 ± 2,39	29,53 ± 2,74
<b>C6/4</b>	37,21 ± 2,75	35,60 ± 1,39	33,73 ± 1,00	32,17 ± 1,11	31,19 ± 2,12	31,35 ± 0,76	31,09 ± 1,14
<b>C6/6</b>	39,00 ± 3,82	36,51 ± 2,87	33,23 ± 2,66	30,99 ± 1,79	29,91 ± 1,74	29,64 ± 1,61	30,72 ± 3,29
<b>MF4/4</b>	37,11 ± 4,21	32,11 ± 2,20	33,35 ± 3,17	32,15 ± 2,58	30,65 ± 2,85	33,28 ± 6,60	31,95 ± 5,04
<b>MG4/4</b>	38,60 ± 2,01	37,43 ± 1,88	34,60 ± 1,46	32,42 ± 2,38	31,65 ± 1,32	31,16 ± 1,71	31,90 ± 2,57
<b>Média</b>	37,88 <sup>a</sup>	35,29 <sup>b</sup>	33,59 <sup>c</sup>	31,85 <sup>d</sup>	30,91 <sup>d</sup>	31,23 <sup>d</sup>	31,04 <sup>d</sup>
<b>Geral</b>	± 3,23	± 2,93	± 2,16	± 1,93	± 2,05	± 3,31	± 3,11

Médias seguidas de letras minúsculas na linha diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK (p<0,05)

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

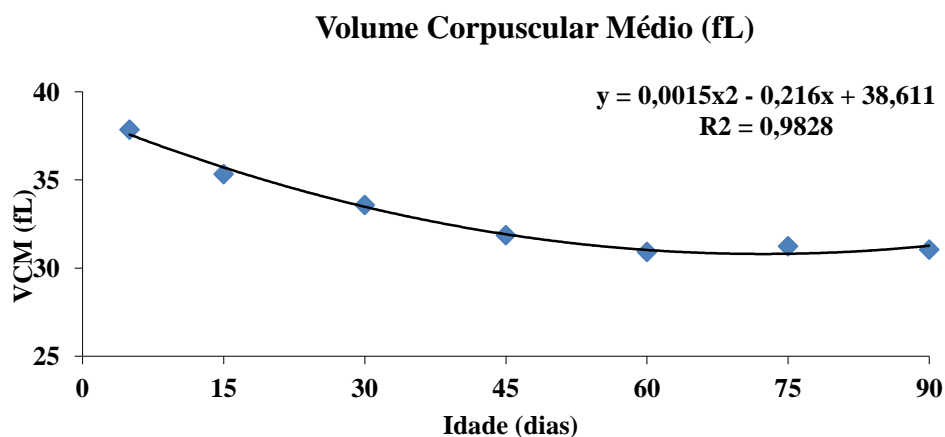


Figura 1. Análise de regressão e coeficiente de determinação do Volume Corpuscular Médio (fL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade.

A análise de regressão para VCM apontou um coeficiente de determinação de  $R^2=98,3\%$  na curva logarítmica na equação  $y=0,0015x^2 - 0,216x + 38,611$ , como mostrado na fig. 1.

Todos os parâmetros dos índices hematimátricos evidenciaram

comportamentos similares quando comparados aos obtidos em pesquisas antecedentes (Lee et al. 1971; Jain, 1986; Adams et al., 1992; Benesi, 1992; Knowles et al. 2000; Mohri et al., 2007; Paes et al., 2011). Além disso, nenhum se diferenciou estatisticamente ( $p>0,05$ )

em relação aos tratamentos, porém todos obtiveram significância ( $p < 0,05$ ) em relação aos momentos avaliados.

O volume corpuscular médio (VCM) diminuiu com o avançar da idade. O maior valor médio para o VCM foi observado no primeiro momento, aos cinco dias de idade, diminuindo gradativa e significativamente ( $p < 0,05$ ) aos 15, 30 e 45 dias, quando se estabilizou até o final do período do estudo. Jain (1986) cita que as hemácias dos bezerros neonatos são maiores, o que caracteriza um VCM maior quando comparados aos de animais mais jovens. Segundo o autor, o tamanho médio da hemácia fetal durante a gestação varia de 90 a 100 fL, diminuindo para menos da metade logo após o nascimento. O tamanho do eritrócito continua diminuindo durante os primeiros três a quatro meses de vida. Esta diminuição gradativa do VCM reflete a substituição de hemácias contendo hemoglobina F (hemoglobina fetal), por hemácias menores contendo hemoglobina tipo A

(hemoglobina do adulto) (Lee et al. 1971; Jain, 1986; Knowles et al. 2000). O mesmo achado foi verificado por diversos autores em que, logo após o nascimento, os valores deste índice mostraram-se elevados, diminuindo com o avançar da idade do neonato (Adams et al., 1992; Benesi, 1992; Mohri et al., 2007; Paes et al., 2011; Benesi et al. 2012). No estudo realizado por Paes et al. (2011), a diferença observada pelos autores foi idêntica ao do presente estudo, com diminuição gradativa aos sete, 14, 28 e 42 dias. Entretanto, Biondo et al. (1998), estudando os elementos constituintes do eritrograma de neonatos bovinos da raça Nelore, obtiveram um comportamento do VCM inverso ao do presente estudo, em que foi menor ao nascimento e aumentou aos sete e aos 15 dias de idade. Apesar da maioria dos trabalhos terem verificado o comportamento de diminuição gradativa da variável, principalmente nos primeiros três meses de vida, comportamentos distintos em outras raças podem ser observados.

Tabela 5. Valores das médias e desvios padrão da Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

Grupos (n=6)	CHCM (g/dL)						
	Momentos (dias)						
	5	15	30	45	60	75	90
<b>C4/4</b>	31,14 ± 0,86	31,02 ± 2,18	31,91 ± 2,48	32,09 ± 0,60	32,72 ± 1,41	32,28 ± 0,88	33,71 ± 1,34
<b>C6/4</b>	29,69 ± 1,62	30,01 ± 1,56	29,62 ± 0,92	31,08 ± 1,15	33,01 ± 2,47	33,03 ± 0,83	32,68 ± 1,22
<b>C6/6</b>	30,39 ± 1,92	31,25 ± 1,90	31,25 ± 1,68	32,18 ± 0,19	32,88 ± 1,26	33,53 ± 0,88	32,31 ± 1,75
<b>MF4/4</b>	31,19 ± 5,05	32,59 ± 2,37	30,93 ± 1,26	31,00 ± 1,77	32,78 ± 0,93	31,69 ± 1,65	33,06 ± 1,17
<b>MG4/4</b>	31,15 ± 1,28	31,41 ± 1,68	31,33 ± 1,24	32,29 ± 0,93	33,45 ± 1,78	33,63 ± 2,12	33,53 ± 2,12
<b>Média</b>	30,71 <sup>b</sup>	31,26 <sup>b</sup>	31,01 <sup>b</sup>	31,73 <sup>b</sup>	32,92 <sup>a</sup>	32,83 <sup>a</sup>	33,06 <sup>a</sup>
<b>Geral</b>	± 2,54	± 2,00	± 1,68	± 1,15	± 1,56	± 1,49	± 1,54

Médias seguidas de letras minúsculas na linha diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

### Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL)

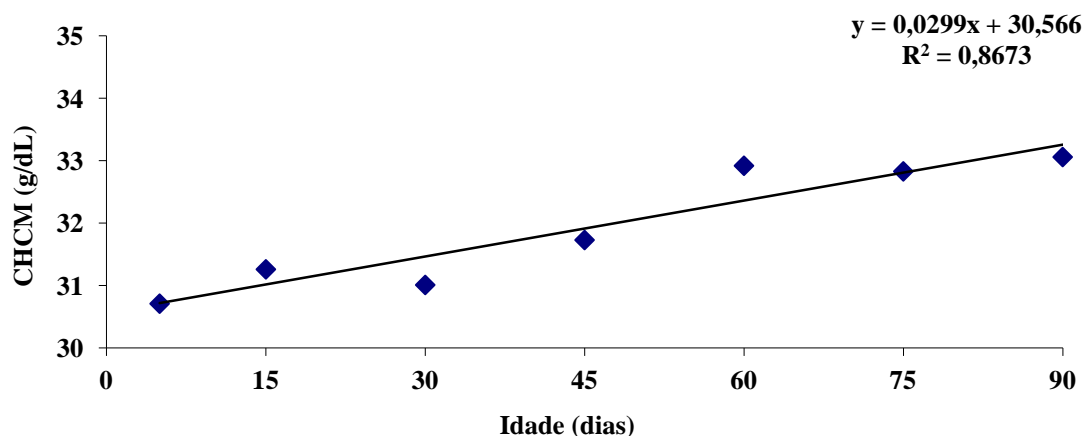


Figura 2. Análise de regressão e coeficiente de determinação da Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade.

Na análise de regressão, a variável CHCM evidenciou uma curva linear com coeficiente de determinação de  $R^2=86,7$  na equação  $y= 0,0299x + 30,566$ , como observado na fig. 2. Ao contrário dos outros índices

hematimétricos, a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) se elevou à medida que o animal se tornou mais velho. Segundo vários autores, o comportamento do CHCM frente ao fator etário é

caracterizado como tendo pequenas oscilações do nascimento até um mês de vida (Kaneko e Mills, 1970; Jain, 1986; Adams et al., 1992), o que pôde ser constatado no presente estudo. Nota-se um discreto aumento da CHCM, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) somente a partir dos 60 dias de idade, quando comparado aos momentos anteriores. A menor média foi verificada no momento M5, mantendo-se até os 45 dias, quando aumentou consideravelmente no momento M60, estabilizando até o final do período avaliado, quando atingiu seu valor máximo, com média de 33,06 g/dL. Para Jain (1993), a partir do 4º mês de vida, o tamanho dos eritrócitos tendem a aumentar gradativamente em paralelo com a diminuição da

concentração de hemácias circulantes. Entre a correlação negativa em relação ao número de hemácias com o seu tamanho, há um mecanismo compensatório pelo qual o volume globular e a concentração de hemoglobina corpuscular média permanecem estáveis (Jain, 1993). Conforme pesquisas de Knowles et al. (2000) e Brun-Hasen et al. (2006), o CHCM nas primeiras semanas foi abaixo dos valores de referência para animais adultos, aumentando e estabilizando na 10ª a 12ª semana de vida. Para os autores, os valores coincidiram com o desaparecimento da hemoglobina fetal que ocorre após a 8ª e 12ª semana de vida do bezerro.

Tabela 6. Valores das médias e desvios padrão da Amplitude de Variação do Volume Celular - RDW (%) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

Grupos (n=6)	RDW (%)						
	Momentos (dias)						
	5	15	30	45	60	75	90
<b>C4/4</b>	22,70 ± 1,85	23,97 ± 2,17	24,23 ± 2,04	23,70 ± 1,56	22,85 ± 1,61	22,48 ± 1,58	22,72 ± 1,97
<b>C6/4</b>	22,98 ± 1,84	23,30 ± 1,19	24,25 ± 3,31	23,50 ± 2,16	22,85 ± 1,56	22,12 ± 1,24	22,22 ± 1,30
<b>C6/6</b>	23,38 ± 0,64	24,67 ± 0,63	25,33 ± 1,92	24,47 ± 1,73	23,47 ± 1,81	23,08 ± 1,18	22,75 ± 0,95
<b>MF4/4</b>	22,25 ± 1,56	22,95 ± 1,33	24,00 ± 1,04	23,42 ± 1,54	23,30 ± 1,55	23,58 ± 2,63	22,95 ± 1,58
<b>MG4/4</b>	23,20 ± 1,32	23,35 ± 1,28	24,25 ± 0,87	23,30 ± 1,16	22,56 ± 0,94	22,37 ± 0,71	21,97 ± 0,59
<b>Média Geral</b>	22,90 <sup>bc</sup> ± 1,43	23,65 <sup>b</sup> ± 1,45	24,41 <sup>a</sup> ± 1,95	23,68 <sup>b</sup> ± 1,60	23,01 <sup>bc</sup> ± 1,45	22,73 <sup>c</sup> ± 1,59	22,52 <sup>c</sup> ± 1,32

Médias seguidas de letras minúsculas na linha diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

O RDW é uma avaliação estatística fornecida pelo aparelho hematológico, que avalia a variação do volume celular,

sem informar, entretanto, se esta se deve ao aumento ou diminuição do volume das células. A variável obteve diferença

significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre os momentos (tab.6). Durante as duas primeiras semanas de vida, o RDW foi menor quando comparado ao momento M30, no qual foi observada a maior média em relação aos outros momentos avaliados. Após o primeiro mês de vida, houve uma redução significativa ( $p < 0,05$ ), observada no momento M45, que se manteve até os 75 dias de idade, quando novamente diminuiu ( $p < 0,05$ ) no último momento avaliado. Ao longo do experimento a variável permaneceu sempre acima dos valores de referência que, conforme Jain (1993) variam entre 17 e 21% para bovinos adultos. Paes et al. (2011) demonstraram que há uma elevação significativa e constante do RDW ao longo das três primeiras semanas de vida dos bezerros holandeses, o que corroborou com os achados do presente estudo. Este fato pode ser ocasionado, possivelmente, pela substituição gradativa das células

fetais pelas células produzidas pelo bezerro, caracterizando discreta a moderada anisocitose pela presença de hemácias de diferentes tamanhos na circulação. Os autores encontraram uma elevação da amplitude de variação do volume das hemácias a partir do quarto até os 21 dias de idade, quando ocorreu estabilização até os 35 dias, também acima dos limites de referência. Brun-Hansen et al. (2006) também verificaram o mesmo comportamento do RDW, porém a média, durante a primeira semana de vida, esteve dentro do intervalo esperado, estabilizando a um nível acima, após esse período.

Os valores médios e desvios padrão de leucócitos totais, neutrófilos segmentados e linfócitos estão apresentados nas tab. 7 a 9. Na fig. 3 está representada a análise de regressão para concentração de linfócitos.

Tabela 7. Valores das médias e desvios padrão de leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

Grupos (n=6)	Leucócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )						
	Momentos (dias)						
	5	15	30	45	60	75	90
<b>C4/4</b>	10,71 $\pm 4,85$	15,98 $\pm 9,17$	17,21 $\pm 9,57$	12,18 $\pm 4,21$	13,63 $\pm 2,43$	13,80 $\pm 2,29$	15,94 $\pm 4,28$
<b>C6/4</b>	10,87 $\pm 2,07$	13,22 $\pm 7,03$	13,73 $\pm 6,28$	10,06 $\pm 2,75$	11,85 $\pm 5,78$	13,37 $\pm 5,68$	13,86 $\pm 5,58$
<b>C6/6</b>	9,75 $\pm 1,46$	17,37 $\pm 3,75$	18,36 $\pm 10,83$	12,49 $\pm 3,59$	15,05 $\pm 2,97$	14,27 $\pm 3,32$	14,52 $\pm 3,12$
<b>MF4/4</b>	9,60 $\pm 3,89$	11,71 $\pm 5,89$	12,61 $\pm 4,47$	9,95 $\pm 2,83$	10,18 $\pm 3,32$	10,57 $\pm 5,87$	12,01 $\pm 4,99$
<b>MG4/4</b>	11,05 $\pm 4,14$	15,72 $\pm 7,16$	10,28 $\pm 4,59$	12,17 $\pm 2,90$	10,08 $\pm 2,68$	13,27 $\pm 5,19$	14,14 $\pm 5,93$
<b>Média</b>	10,40 <sup>b</sup>	14,79 <sup>a</sup>	14,44 <sup>a</sup>	11,37 <sup>ab</sup>	12,16 <sup>ab</sup>	13,06 <sup>a</sup>	14,09 <sup>a</sup>
<b>Geral</b>	$\pm 3,41$	$\pm 6,63$	$\pm 7,68$	$\pm 3,28$	$\pm 3,92$	$\pm 4,55$	$\pm 4,72$

Médias seguidas de letras minúsculas na linha diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

Tabela 8. Valores das médias e desvios padrão de neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

		Neutrófilos segmentados ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )						
Sucedâneo	Grupos (n=6)	Momentos (dias)						
		5	15	30	45	60	75	90
Sucedâneo	C4/4	5,33 <sup>Aab</sup> ± 2,67	8,03 <sup>Aab</sup> ± 6,34	9,23 <sup>ABa</sup> ± 7,41	3,45 <sup>Ab</sup> ± 1,08	5,12 <sup>Aab</sup> ± 3,26	6,34 <sup>Aab</sup> ± 2,02	8,09 <sup>Aa</sup> ± 3,39
	C6/4	5,16 <sup>Aa</sup> ± 2,02	6,72 <sup>Aa</sup> ± 4,27	5,39 <sup>Ba</sup> ± 3,23	3,07 <sup>Aa</sup> ± 1,11	5,19 <sup>Aa</sup> ± 3,36	6,34 <sup>Aa</sup> ± 3,60	4,78 <sup>Aa</sup> ± 2,00
	C6/6	5,37 <sup>Ab</sup> ± 1,40	10,38 <sup>Aab</sup> ± 3,71	11,99 <sup>Aa</sup> ± 3,59	5,97 <sup>Ab</sup> ± 2,80	6,94 <sup>Aab</sup> ± 3,06	7,20 <sup>Aab</sup> ± 3,37	6,35 <sup>Aab</sup> ± 2,98
Ração	C4/4	5,33 <sup>Aab</sup> ± 2,67	8,03 <sup>Aab</sup> ± 6,34	9,23 <sup>Aa</sup> ± 7,41	3,45 <sup>Ab</sup> ± 1,08	5,12 <sup>Aab</sup> ± 3,26	6,34 <sup>Aab</sup> ± 2,02	8,09 <sup>Aa</sup> ± 3,39
	MF4/4	4,96 <sup>Aa</sup> ± 2,71	3,94 <sup>Ba</sup> ± 2,53	5,53 <sup>Aa</sup> ± 2,99	4,54 <sup>Aa</sup> ± 2,46	3,76 <sup>Aa</sup> ± 1,44	5,15 <sup>Aa</sup> ± 3,92	4,36 <sup>Aa</sup> ± 2,39
	MG4/4	5,33 <sup>Aa</sup> ± 3,21	9,20 <sup>Aa</sup> ± 6,97	4,16 <sup>Aa</sup> ± 2,55	4,69 <sup>Aa</sup> ± 3,32	4,79 <sup>Aa</sup> ± 1,50	5,04 <sup>Aa</sup> ± 4,09	4,67 <sup>Aa</sup> ± 3,28

Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

Tabela 9. Valores das médias e desvios padrão de linfócitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

		Linfócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )						
Grupos (n=6)		Momentos (dias)						
		5	15	30	45	60	75	90
Sucedâneo	C 4/4	3,73 ± 1,72	6,86 ± 2,01	6,35 ± 3,32	7,49 ± 3,68	7,86 ± 2,15	6,75 ± 2,88	7,23 ± 2,27
	C 6/4	3,86 ± 1,93	4,94 ± 2,45	7,30 ± 4,41	5,85 ± 2,53	5,89 ± 2,18	5,44 ± 2,12	7,77 ± 3,09
	C 6/6	3,45 ± 0,90	5,46 ± 2,11	4,97 ± 1,48	5,44 ± 1,18	6,91 ± 1,14	6,17 ± 1,31	7,23 ± 3,17
	MF 4/4	2,68 ± 0,57	6,17 ± 3,73	6,01 ± 1,33	5,01 ± 1,31	5,11 ± 2,47	4,89 ± 1,16	6,76 ± 2,63
	MG 4/4	4,66 ± 1,99	5,18 ± 1,98	5,39 ± 2,07	6,12 ± 3,33	4,59 ± 2,18	7,85 ± 1,92	7,93 ± 3,84
<b>Média Geral</b>		3,67 <sup>b</sup> ± 1,54	5,72 <sup>a</sup> ± 2,46	6,00 <sup>a</sup> ± 2,71	6,14 <sup>a</sup> ± 2,57	6,07 <sup>a</sup> ± 2,27	6,22 <sup>a</sup> ± 2,11	7,39 <sup>a</sup> ± 2,86

Médias seguidas de letras minúsculas na linha diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

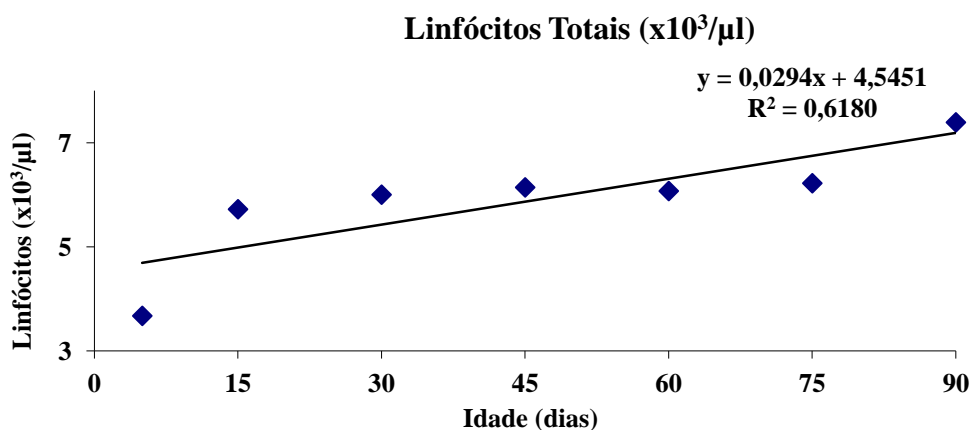


Figura 3. Análise de regressão e coeficiente de determinação de linfócitos totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco a 90 dias de idade.

As quantidades de leucócitos totais e de linfócitos foram influenciadas ( $p < 0,05$ ) apenas em relação às idades, enquanto as de neutrófilos segmentados apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e os momentos avaliados. A leucometria total foi menor no primeiro momento (M5), aumentando consideravelmente ( $p < 0,05$ ) aos 15 dias e mantendo estável ao longo dos outros períodos. O mesmo foi observado por Paes et al. (2011) no leucograma de bezerros até 42 dias, no qual observou-se menor quantidade aos sete dias e aumento significativo aos 14 dias. Em contrapartida, Mohri et al. (2007) encontraram uma diminuição da contagem de leucócitos nas duas primeiras semanas de vida, aumentando consideravelmente somente aos 28 dias. Os autores, conforme Jain (1986) atribuem estas diferenças como estando relacionadas aos bezerros individualmente, no qual os níveis de cortisol no neonato são elevados e diminuem progressivamente a partir do 11º ao 20º dia de vida, podendo ocasionar alterações fisiológicas como leucocitose por neutrofilia. Além disso, a alta incidência de diarreias e aos

quadros de infecções umbilicais, diagnosticados principalmente no primeiro mês de vida, podem ter contribuído para estes achados.

Conforme observado nas tab. 7 e 8, o aumento de leucócitos totais, mais especificamente devido à elevação da quantidade de neutrófilos, provavelmente foram em decorrência de onfalites. Dos 30 bezerros do estudo, 12 deles (40,0%) apresentaram a enfermidade, sendo dois animais do grupo C6/4, três do grupo C6/6 do tratamento sucedâneo, dois bezerros do grupo MF4/4 e dois do grupo MG4/4 do tratamento granulometria da ração e três animais do grupo C4/4, comum a ambos.

No total de neutrófilos segmentados, em relação ao tratamento sucedâneo, a diferença observada ocorreu apenas aos 30 dias, entre os grupos C6/4 e C6/6. Neste momento, 2/6 (33,3%) bezerros do grupo C6/6 apresentaram intensa leucocitose com  $35,0$  e  $28,5 \times 10^3/\mu\text{l}$  e neutrofilias de  $24,2$  e  $23,6 \times 10^3/\mu\text{l}$ , respectivamente, superiores ( $p < 0,05$ ) em relação ao C6/4. Para os momentos,

as alterações foram evidentes nos grupos C4/4 e C6/6. No primeiro, a média manteve-se elevada durante o primeiro mês de vida, para diminuir significativamente ( $p < 0,05$ ) aos 45 dias de idade e estabilizar. Já no segundo, a média foi menor aos cinco dias, elevando-se consideravelmente ( $p < 0,05$ ) aos 30 dias para novamente diminuir ( $p < 0,05$ ) aos 45 e manter estabilizado ao longo do período de estudo.

No tratamento granulometria da ração, a diferença significativa ( $p < 0,05$ ) verificada entre os grupos C4/4 e MF4/4 aos 15 dias de idade também foi atribuída à leucocitose por neutrofilia devido à ocorrência de onfalites. No grupo C4/4, 3/6 (50,0%) dos animais apresentaram a enfermidade que, apesar de clinicamente sadios, dois deles obtiveram contagens de leucócitos totais de 29,7 e 24,6 x 10<sup>3</sup>/μl com neutrofilia de 19,9 e 16,7 x 10<sup>3</sup>/μl, respectivamente.

Levando em consideração a contagem de neutrófilos e linfócitos, muitos autores já descreveram a influência do fator etário no qual, especificamente para a espécie bovina, a quantidade de neutrófilos circulantes nos primeiros meses é superior aos dos linfócitos, invertendo a relação com o avançar da idade (Jain, 1993; Jones e Allison, 2007; Rocha et al., 2010; Mohri et al., 2007). Nota-se aumento significativo da quantidade de linfócitos com o avançar da idade, corroborando com os relatos por estes autores. No presente estudo, o menor valor médio foi verificado no primeiro momento (M5), aumentando consideravelmente ( $p < 0,05$ ) aos 15 dias

de idade e estabilizando. Foi encontrado modelo de regressão linear para a variável linfócitos totais com coeficiente de determinação  $R^2 = 61,8\%$  na equação  $y = 0,0294x + 4,5451$ , como demonstrado na fig. 3. Rocha et al. (2010) e Benesi et al. (2012) também notaram aumento na contagem de linfócitos com o avançar da idade em bezerros até 30 dias sendo que os valores verificados às 12-24 horas de idade foram significativamente menores que aos 15 e 30 dias. Já para Jones e Allison (2007) o aumento de linfócitos aconteceu mais tardiamente, entre o 6º e 8º mês de vida, quando houve inversão da relação neutrófilo:linfócito. Como relatado por Jain (1986), o bezerro neonato, como a maioria das outras espécies, iniciam sua vida com menos linfócitos circulantes em comparação com os neutrófilos. Até os três meses de vida, segundo o autor, a concentração da célula mononuclear dobra, representando de 70 a 80% do total de leucócitos na espécie bovina. Deve-se ressaltar que, além da influência etária evidenciada por diversos pesquisadores em relação aos neutrófilos e linfócitos (Holman, 1956; Kaneko e Mills, 1970; Tennant, 1974; Jain, 1986; Adams et al., 1992; Knowles et al. 2000; Mohri et al., 2007; Benesi et al., 2012), o constante desafio a que os bezerros são expostos, principalmente no primeiro mês de vida, ocasionadas pelo estresse do manejo ou pela ocorrência de enfermidades como enterites e onfalites, puderam levar à alterações no leucograma, com achados típicos de leucocitose por neutrofilia e linfopenia. A correlação foi negativa e significativa ( $p < 0,05$ ) entre neutrófilos segmentados e linfócitos com coeficiente de determinação  $r = 0,44$ .



Os valores médios e desvios padrão da relação neutrófilo:linfócitos (N:L) estão

descritos na tab. 10.

Tabela 10. Valores das médias e desvios padrão da relação neutrófilo:linfócito (N:L) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias de idade em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

Grupos (n=6)	Relação N:L						
	Momentos (dias)						
	5	15	30	45	60	75	90
<b>C 4/4</b>	1,68 ± 1,10	1,19 ± 1,15	2,59 ± 2,21	0,58 ± 0,40	0,77 ± 0,61	1,15 ± 0,76	1,17 ± 0,54
<b>C 6/4</b>	2,45 ± 1,24	1,40 ± 0,55	1,11 ± 1,07	0,63 ± 0,33	0,85 ± 0,37	1,13 ± 0,59	0,62 ± 0,15
<b>C 6/6</b>	1,64 ± 0,58	2,19 ± 1,22	2,72 ± 2,60	1,08 ± 0,47	1,06 ± 0,61	1,22 ± 0,64	1,17 ± 0,94
<b>MF 4/4</b>	2,09 ± 1,57	0,97 ± 0,92	0,89 ± 0,36	0,93 ± 0,48	0,79 ± 0,27	1,07 ± 0,93	0,65 ± 0,29
<b>MG 4/4</b>	1,20 ± 0,60	2,08 ± 1,78	0,80 ± 0,47	0,82 ± 0,43	1,34 ± 0,98	0,62 ± 0,48	0,86 ± 0,42
<b>Média geral</b>	1,81 ± 0,85	1,57 ± 0,93	1,62 ± 1,21	0,81 ± 0,57	0,96 ± 0,77	1,04 ± 0,88	0,89 ± 0,81

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

Não se observou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) da relação neutrófilo:linfócito entre os grupos e momentos avaliados. Os grupos C4/4 e C6/4 demonstraram quase o mesmo comportamento, com diminuição da quantidade de neutrófilos e aumento de linfócitos aos 45 dias de idade, porém mantendo-se somente até os 60 dias. O grupo C6/6 foi o único a apresentar relação N:L sempre superior a 1,0 com presença de neutrofilia nos momentos M15 e M30. Ao contrário, o grupo MF4/4 já apresentou inversão da relação N:L aos 15 dias, mantendo-se ao longo de todo o período, exceto aos 75 dias de idade. O grupo MG4/4 obteve inversão aos 30 e 45 dias de idade, com aumento aos 60 dias e posterior diminuição nos momentos M75 e M90. Conforme já discutido

anteriormente, a presença de leucocitose por neutrofilia nos primeiros três momentos foram ocasionadas possivelmente pela infecção umbilical, fazendo com que a relação N:L mantivesse elevada, o que não se pode atribuir caso os animais não apresentassem estes quadros. Benesi et al. (2012) observaram quantidade de linfócitos superiores a de neutrófilos já aos 4 dias de idade em bezerros holandeses, na qual ocorreu diminuição da relação N:L, porém não se manteve, permanecendo baixa a partir do 7º dia de vida até o final do experimento. Da mesma maneira, Biondo et al. (1998), trabalhando com bezerros da raça Nelore obtiveram inversão da proporção neutrófilo:linfócito logo na primeira semana de vida, entre o 7º e 10º dia. No

presente estudo, a correlação de Pearson mostrou-se elevada e positiva com  $r=0,89$  ( $p<0,05$ ) entre a contagem de neutrófilos com a relação N:L. Já para os linfócitos, a correlação significativa ( $p<0,05$ ) foi negativa, com coeficiente de determinação de  $r=0,67$ .

Não houve diferença estatística ( $p>0,05$ ) entre neutrófilos imaturos em relação ao manejo nutricional e às idades. A contagem absoluta dos tipos celulares foram de 0 a 0,57; 0 a 1,28 e 0 a 3,38 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) para neutrófilos mielócitos, metamielócitos e bastonetes, respectivamente, sendo as maiores quantidades observadas nas duas primeiras semanas de vida. O desvio nuclear neutrofilico à esquerda observado foi sempre regenerativo, exceto em um bezerro do grupo MF4/4 no momento M15. Segundo Adams et al. (1992), Jain (2000) e Benesi et al. (2012), a medula óssea bovina não possui uma grande reserva neutrofilica e, quando neutrófilos imaturos atingem a corrente sanguínea certamente é decorrente de processos inflamatórios ou por aumento fisiológico dos níveis séricos de cortisol associado ao estresse do parto ou do manejo.

As contagens de eosinófilos, basófilos e monócitos variaram de 0 a 2,40; 0 a 0,62 e 0 a 6,10 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), respectivamente, não se observando diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre as variáveis. Diferentemente da tendência observada por Fagliari et al. (1998), as contagens de monócitos e eosinófilos não aumentaram com a idade. Jain (1993) relatou que, em alguns animais, o número de eosinófilos

circulantes pode ser influenciado pela idade, e Costa et al. (2000) verificaram aumento da contagem de eosinófilos em animais com 24 a 48 meses de idade. Em ruminantes normais, os basófilos estão presentes em pequeno número e raramente são encontrados na contagem diferencial manual (Jones e Allison, 2007). As contagens médias de eosinófilos e basófilos observados entre as faixas etárias dos bezerros no presente estudo oscilaram ligeiramente entre os cinco e 90 dias de idade. Nenhuma mudança significativa em relação aos grupos e momentos foi observada na contagem destes tipos celulares, consistente com as descobertas de Tennant et al. (1974), Adams et al (1992) e Benesi (1992), enquanto outros autores observaram aumento dos números com o avançar da idade (Holman 1956). Em relação aos monócitos, a maioria dos trabalhos descreve pequenas oscilações da quantidade no sangue periférico, havendo discordância entre os mesmos. Enquanto Tennant (1974) e Benesi (2012) encontraram aumento significativo nos primeiros meses de vida, Adams et al. (1992) relataram diminuição de monócitos circulantes nesta faixa etária.

As quantidades médias e desvios padrão de plaquetas totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) estão representados na tab. 11.

Tabela 11. Valores das médias e desvios padrão de plaquetas totais ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) de bezerros da raça Holandesa dos cinco aos 90 dias em relação às diferentes quantidades de sucedâneo (L/dia) e de granulometrias da ração.

		Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )						
Sucedâneo	Grupos (n=6)	Momentos (dias)						
		5	15	30	45	60	75	90
Sucedâneo	C 4/4	455 <sup>Aab</sup> ±132	685 <sup>Aa</sup> ± 285	426 <sup>Aab</sup> ±114	437 <sup>Aab</sup> ± 159	341 <sup>Ab</sup> ± 154	422 <sup>Aab</sup> ± 60	418 <sup>Aab</sup> ± 52
	C 6/4	479 <sup>Aa</sup> ±182	352 <sup>Bab</sup> ± 71	354 <sup>Aab</sup> ±59	352 <sup>Aab</sup> ± 97	358 <sup>Aab</sup> ± 90	389 <sup>Aab</sup> ± 73	276 <sup>Bb</sup> ± 34
	C 6/6	493 <sup>Aa</sup> ±107	474 <sup>ABa</sup> ± 135	456 <sup>Aa</sup> ±143	472 <sup>Aa</sup> ± 171	391 <sup>Aa</sup> ± 146	423 <sup>Aa</sup> ± 66	409 <sup>Aa</sup> ± 99
Ração	C 4/4	455 <sup>Aab</sup> ±132	685 <sup>Aa</sup> ± 285	426 <sup>Aab</sup> ±114	437 <sup>Aab</sup> ± 159	341 <sup>Ab</sup> ± 154	422 <sup>Aab</sup> ± 60	418 <sup>Aab</sup> ± 52
	MF 4/4	495 <sup>Aab</sup> ± 49	621 <sup>Aa</sup> ± 234	414 <sup>Aab</sup> ± 98	421 <sup>Aab</sup> ± 135	376 <sup>Ab</sup> ± 117	362 <sup>Ab</sup> ± 69	404 <sup>Aab</sup> ± 139
	MG 4/4	532 <sup>Aa</sup> ± 155	400 <sup>Ba</sup> ± 84	372 <sup>Aa</sup> ± 83	410 <sup>Aa</sup> ± 93	356 <sup>Aa</sup> ± 60	428 <sup>Aa</sup> ± 49	427 <sup>Aa</sup> ± 62

Médias seguidas de letras maiúsculas na coluna diferem-se estatisticamente pelo Teste SNK ( $p < 0,05$ )

4/4: 4 litros de sucedâneo/dia; 6/4: 6 litros sucedâneo/dia até 29 dias e 4 litros até 60 dias; 6/6: 6 litros de sucedâneo/dia. C: ração milho fino; MF: ração milho floculado; MG: ração milho grosso.

A diferença estatística em relação à quantidade de plaquetas foi verificada entre os momentos e somente entre os grupos do tratamento sucedâneo. Em relação aos grupos sucedâneo, o menor valor observado foi no C6/4, aos 15 dias de idade, com média de  $352 \times 10^3/\mu\text{l}$ , diferenciando-se significativamente ( $p < 0,05$ ) do grupo C4/4. Essa diferença foi novamente observada no último momento, no qual o grupo C6/4 apresentou a menor média, diferenciando-se significativamente ( $p < 0,05$ ) dos demais grupos. Já em relação aos momentos, as maiores médias foram verificadas, principalmente, nas duas primeiras semanas de vidas (cinco e 15 dias), diferenciando-se significativamente ( $p < 0,05$ ) do último mês avaliado (60, 75 e 90 dias). Estas diferenças foram

observadas nos grupos C4/4 e C6/4 (sucedâneo) e nos grupos C4/4 e MF4/4 (granulometria da ração). Ao longo do experimento não foi verificado nenhum quadro de trombocitopenia. Entretanto, contagens de plaquetas superiores a  $800 \times 10^3/\mu\text{l}$ , caracterizado como trombocitose para a espécie em estudo, foram observados em um bezerro do grupo MG4/4 no momento M5. No momento M15, um bezerro do grupo C4/4 e dois do MF4/4 também apresentaram elevação da contagem de plaquetas. Deve-se ressaltar que uma avaliação da quantidade de plaquetas junto ao leucograma e concentração de fibrinogênio nos primeiros 30 dias de vida deve ser considerada, já que a elevada incidência de diarreias, a ocorrência de infecções umbilicais ou outros processos inflamatórios

inespecíficos puderam levar ao estímulo de liberação de plaquetas para o sangue periférico. Apesar das médias ao longo dos períodos permanecerem dentro do intervalo esperado, nas primeiras duas semanas de vida, estas foram superiores. Conforme Knowles et al. (2000) e Mohri et al. (2007) em seus estudos, o número de plaquetas de bezerros neonatos ao nascimento estavam dentro do intervalo de referência para animais adultos, porém houve uma tendência ao crescimento a partir dos seis aos 14 dias de idade, muitas das vezes superando os valores de normalidade. Os padrões de alterações foram similares para o presente estudo, no entanto estes autores relataram não haver uma razão clara para o aumento da quantidade de plaquetas no período mencionado.

## CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento e de acordo com os resultados obtidos, podem ser apresentadas as seguintes conclusões sobre a influência dos fatores etário e nutricional sobre o perfil hematológico de bezerros machos da raça Holandesa nos primeiros três meses de vida:

Não há influência do volume de leite sucedâneo e/ou da granulometria da ração sobre a hematologia dos bezerros até 90 dias de idade.

A presença de co-enfermidades nos primeiros três meses de criação de

bezerros interferiu negativamente nas análises hematológicas, sendo que o n amostral possa ter comprometido o comportamento das variáveis.

A presença de bezerros desidratados e/ou anêmicos na primeira semana de vida provavelmente contribuiu para divergências dos parâmetros eritrocitários observados entre os tratamentos.

Os índices sofrem influência marcante do fator etário. Com o avançar da idade a hemácia diminui seu tamanho e concentra mais hemoglobina.

Assim como no eritrograma, fatores extras nutricionais como estresse, incidência de diarreias e infecções umbilicais interferem nos resultados do leucograma, caracterizado por leucocitose por neutrofilia.

A concentração de linfócitos aumenta com o avançar da idade, passando a predominar no sangue periférico da espécie em estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. Hematologic values in newborn beef calves. *American Journal Veterinary Research*, v. 53, p. 944-950, 1992.
- BENESI, F.J.; TEIXEIRA, C.M.C.; LISBOA, J.A.N et al. Eritrograma de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. n. 32, v. 4, p. 357 – 360, 2012.
- 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.
- COELHO, S.G. Criação de Bezerros. II Simpósio Mineiro de Buiatria. Escola de Veterinária – UFMG, Outubro, 2005.
- DAVIS C.L.; DRACKLEY J.K. The development, nutrition, and management of young calf: Iowa: State University, 339 p., 1998.
- FAGLIARI, J.J., SANTANA, A.E., LUCAS, F.A., et al. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.50, n.3, p.253-262, 1998.
- GALINDO, R.C.G; FERREIRA, A.F.; MENDES, E.I, et al. Eritrograma de bovinos da raça holandesa criados na Mesorregião Metropolitana do Recife: influência dos fatores sexuais e etários. *Artigo Científico*. v.3, n.3, p. 1 – 6, 2009.
- GOODGER, W.J.; THEODORE E.M. Calf management practices and health management decisions on large dairies. *Journal Dairy Science*. v.69, p.580-590, 1986.
- JAIN, N.C. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, 417p., 1993.
- JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, First Edition. Cap. 7. p.178 - 207, 1986.
- JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice*, v.23, p. 377-402, 2007.
- KANEKO, J.J.; MILLS, R. Hematological and blood chemical observations in neonatal normal and porphyric calves in early life. *Cornell Veterinary*. v. 60, p. 52 – 60, 1970.
- KNOWLES T.G.; EDWARDS J.E.; BAZELEY, K.J. et al. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*. v. 147, p. 593–598, 2000.
- 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, p.30-39, 2007.
- PAES, P.R.O.; VELOSO, L.B; SANTOS. et al. Citologia de medula óssea das primeiras seis semanas de vida de bovinos da raça Holandesa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, n.2, p. 499 – 502, 2011.
- RADOSTITS, O. M. et al. Clínica Veterinária, 9.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 56-59, 2002.
- RENGIFO, S.A.; SILVA, R.A.; BOTTEON, R.C.C.M et al. Hemograma e bioquímica sérica auxiliar em bezerros mestiços neonatos e ocorrência de enfermidades. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.4, p.993-997, 2010.
- ROCHA, T.G.; FRANCIOSI, C.; NOCITI, R.P. et al. Hemograma e proteínas do soro sanguíneo de bezerros Canchim-Nelore e da raça Holandesa nos primeiros 30 dias de vida. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.5, p.1250-1254, 2010.

TENNANT, B., HARROLD D., REINA-GUERRA, M. Haematology of the neonatal calf: Erythrocyte and leukocyte values of normal calves. *Cornell Vet.* 64:516-532, 1974.

THRALL, M.A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Ed. Roca. p. 170 – 184, 2007.

Apêndice 1. Bezerreiro tipo argentino (local do experimento – Escola de Veterinária da UFMG)



Foto: Ana Paula Franzoni (2011)

- O experimento foi realizado em um bezerreiro do tipo argentino, localizado na Escola de Veterinária da UFMG - Belo Horizonte, MG.
- O bezerreiro tem capacidade para 42 animais, alojados de forma individual.
- Cada bezerro era preso por corrente anexada em arame para correr de 5m e espaçamento de 4m entre os arames.
- Os animais foram presos aos arames por correntes de 1m de comprimento.
- Em uma das extremidades do arame havia um suporte para dois baldes, com altura média de 40 cm
- A área de sombra era de 8,5 m<sup>2</sup>/animal, proveniente de tela com bloqueio de 80% da radiação solar.
- O local possuía cobertura de grama batatais (*Paspalumnotatum*) e era cercado por tela de arame.
- Era dois baldes para cada bezerro, um contendo água e outro ração concentrada. No momento do aleitamento, a água era retirada para o fornecimento do sucedâneo.
- O período experimental foi de setembro de 2010 a março de 2011.

Apêndice 2. Valores individuais dos hemogramas dos bezerros de 30 dias de idade

<b>RBC</b> (x10 <sup>6</sup> /μl)	<b>Hb</b> (g/dL)	<b>VG</b> (%)	<b>VCM</b> (fL)	<b>CHCM</b> (g/dL)	<b>HCM</b> (pg)	<b>RDW</b> (%)	<b>WBC</b>	<b>Neut</b>	<b>Linf</b>	<b>Eos</b>	<b>Basof</b>	<b>Monoc</b>	<b>N:L</b>	<b>Plaquetas</b> (x10 <sup>3</sup> /μl)	<b>PPT</b> (g/dL)	<b>Fib</b> (mg/dL)
8,90	9,2	30	33,7	30,6	10,3	22,0	6960	1323	5220	0	0	418	0,25	341	5,4	400
6,80	5,5	22	32,3	25,0	8,0	27,6	7410	2590	4292	0	0	370	0,60	993	4,0	400
9,30	9,6	34	36,5	28,2	10,4	22,3	18900	2835	15309	0	0	756	0,19	519	5,2	600
8,30	9,6	31	37,3	30,9	11,6	23,7	14000	7140	6720	140	0	0	1,06	607	5,2	200
9,90	9,7	33	33,3	29,4	9,8	25,6	9690	4748	4651	97	0	194	1,02	361	5,4	600
10,00	10,9	36	36,0	30,3	10,8	21,7	13800	3312	9522	138	0	690	0,35	434	5,0	400
11,20	10,6	34	30,3	31,2	9,4	25,4	16300	7498	8150	489	0	163	0,92	746	5,4	600
9,70	10,2	32	33,0	31,8	10,4	24,9	15700	10676	3768	0	0	1099	2,83	423	6,0	600
8,10	8,7	26	32,0	33,4	10,8	22,9	13700	10823	2329	0	0	137	4,65	628	4,0	200
6,20	6,6	22	35,4	30,0	10,6	22,6	18300	14457	3294	0	0	549	4,39	257	5,0	600
10,50	11,1	36	34,3	30,8	10,5	24,5	15100	8607	5285	0	0	151	1,63	278	5,0	400
7,00	7,8	26	34,1	31,4	10,7	22,3	7450	3427	3427	75	0	522	1,00	422	5,4	400
11,30	11,1	35	31,0	31,7	9,8	24,3	19100	13179	5157	0	0	573	2,55	805	5,0	600
8,40	9,4	29	34,5	32,4	11,3	22,8	11900	7497	4046	119	0	238	1,85	515	5,8	600
8,00	9,4	30	34,5	31,3	10,8	22,3	11200	4368	6272	224	0	336	0,69	724	4,8	400

RBC: hemácias; Hb: hemoglobina; VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia; WBC: leucócitos totais; Neut: neutrófilos segmentados; Linf: linfócitos; Eos: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito; PPT: proteína plasmática total; Fib: fibrinogênio



Apêndice 3. Valores individuais de celularidade, megacariócitos, relação mielóide:eritróide (M:E) e das células da série eritróide na medula óssea dos bezerros de 30 dias de idade

<b>Celularidade (%)</b>	<b>Megacariócitos</b>	<b>Relação M:E</b>	<b>Rubriblastos (%)</b>	<b>Prorrubricitos (%)</b>	<b>Rubricitos (%)</b>	<b>Metarrubricitos (%)</b>
80	5	0,61	1,1	1,0	41,0	12,5
70	6	0,53	0,6	0,6	25,0	14,8
90	6	0,56	3,1	1,4	42,2	13,4
70	12	0,69	0,6	0,6	32,0	13,6
70	9	0,60	0,8	0,4	18,0	18,7
80	4	1,63	0,9	2,4	25,5	8,3
75	8	0,58	0,9	0,7	39,0	16,5
70	5	0,49	0,9	0,7	34,0	17,3
80	6	0,58	0,9	1,1	28,5	17,2
80	4	0,63	1,0	0,9	32,0	17,2
70	5	0,62	1,4	1,2	50,0	16,4
70	6	0,56	0,9	1,5	37,8	15,6
70	6	0,51	1,4	1,0	25,0	19,4
70	4	0,52	1,4	1,3	20,3	19,8
70	5	0,36	2,4	1,5	49,5	16,0

Apêndice 4. Valores individuais de células da série mielóide, série monocítica, linfócitos e plasmócitos na medula óssea dos bezerros de 30 dias de idade

Mieloblastos (%)	Promielócitos (%)	Neutrófilo Mielócito (%)	Neutrófilo Metamielócito (%)	Neut Bast (%)	Neut Segm (%)	Eos Miel (%)	Eos Meta (%)	Eos Bast (%)	Eos Segm (%)	Basof (%)	Mono/MØ (%)	Linf (%)	Plasm (%)
0,7	0,4	2,3	1,8	4,7	18,1	0,9	1,1	1,4	3,4	0,1	0,40	2,10	0,10
0,6	0,7	1,1	1,6	3,4	20,4	0,5	0,9	1,4	2,3	0,1	0,20	2,60	0,20
1,3	0,5	1,8	3,6	7,8	14,0	0,4	0,9	0,0	0,4	0,0	0,20	2,00	0,50
0,7	0,9	1,2	1,5	3,7	19,8	0,7	1,1	1,5	2,0	0,1	0,30	2,60	0,30
0,6	1,2	3,1	2,3	5,9	15,9	1,2	1,0	1,0	1,0	0,0	0,20	1,60	0,20
0,6	1,5	3,3	8,2	12,5	23,5	1,1	1,9	1,5	1,3	0,4	1,70	1,10	0,40
0,3	0,6	2,1	2,3	2,7	14,5	1,0	1,1	1,2	1,7	0,1	0,40	1,90	0,00
0,5	0,7	2,4	2,6	2,4	13,9	1,4	1,4	1,2	1,4	0,2	0,40	1,90	0,00
1,4	1,6	2,6	3,0	7,4	12,5	0,7	0,9	1,4	1,2	0,0	0,00	1,50	0,50
0,5	0,6	2,9	2,0	6,6	17,3	0,8	1,0	1,5	0,4	0,0	0,30	1,20	0,00
0,5	0,6	0,6	1,0	6,5	11,4	0,7	0,5	0,8	0,8	0,0	0,30	1,60	0,10
0,1	1,0	2,8	5,5	5,2	11,7	1,8	1,8	0,7	0,4	0,3	0,70	1,60	0,50
0,8	0,4	3,3	2,2	6,9	13,3	1,0	1,2	1,7	0,4	0,0	0,30	1,00	0,00
0,8	0,2	2,2	1,4	5,1	13,4	2,0	1,3	2,7	2,5	0,0	0,20	1,20	0,20
0,5	0,8	0,8	1,1	7,1	10,3	0,7	0,5	1,2	0,4	0,0	0,70	1,60	0,10

Neut Bast: neutrófilo bastonete; Neut Segm: neutrófilo segmentado; Eos Miel: eosinófilo mielócito; Eos Meta: eosinófilo metamielócito; Eos Bast: eosinófilo bastonete; Eos Segm: eosinófilo segmentado; Basof: basófilos; Mono/MØ: monócitos/macrófagos; Linf: Linfócitos; Plasm: plasmócitos

Apêndice 5. Valores individuais dos hemogramas dos bezerros de 60 dias de idade

<b>RBC</b> (x10 <sup>6</sup> /μl)	<b>Hb</b> (g/dL)	<b>VG</b> (%)	<b>VCM</b> (fL)	<b>CHCM</b> (g/dL)	<b>HCM</b> (pg)	<b>RDW</b> (%)	<b>WBC</b>	<b>Neut</b>	<b>Linf</b>	<b>Eos</b>	<b>Basof</b>	<b>Monoc</b>	<b>N:L</b>	<b>Plaquetas</b> (x10 <sup>3</sup> /μl)	<b>PPT</b> (g/dL)	<b>Fib</b> (mg/dL)
10,50	10,8	33	31,4	32,7	10,2	23,3	7510	4200	2775	450	0	75	1,51	362	6,0	200
11,30	11,6	37	32,7	31,3	10,2	23,9	11000	3740	6820	440	0	0	0,55	493	6,0	400
7,80	7,8	23	29,3	33,9	9,9	24,7	18300	6222	7869	3477	0	549	0,79	317	6,2	400
12,60	12,1	38	30,1	31,8	9,6	24,1	10200	3366	4998	816	0	1020	0,67	347	5,6	600
12,00	12,2	37	30,8	32,9	10,2	23,7	14900	3725	7003	2831	0	1192	0,53	419	5,0	400
9,90	8,8	32	32,4	27,5	8,9	23,0	8180	1636	6380	0	0	164	0,26	294	5,4	400
10,50	11,4	36	34,3	31,6	10,8	24,9	14600	9344	3350	876	0	0	2,79	375	5,2	200
9,40	9,1	28	29,8	32,5	9,7	23,7	8840	4773	3890	88	0	88	1,22	182	4,6	200
12,50	13,4	39	31,2	34,3	10,6	22,3	10400	5512	4160	104	0	520	1,32	382	6,0	200
11,60	11,5	35	30,2	32,8	9,8	22,3	17200	6192	7224	172	0	1892	0,86	343	7,6	600
12,80	12,3	36	28,1	34,2	9,6	23,8	14700	7350	7056	0	0	294	1,04	365	6,0	200
12,80	12,6	36	28,1	35,0	9,8	24,1	14500	4640	7975	1015	290	580	0,58	273	5,8	400
11,90	12,4	35	29,4	35,4	10,4	23,7	16000	5120	10560	320	0	0	0,49	436	6,8	600
10,30	11,3	31	30,1	36,4	10,9	20,9	18900	7560	11151	189	0	0	0,68	511	6,0	600
11,20	12,3	35	31,3	35,1	10,9	23,7	14100	6204	6768	987	0	141	0,91	241	5,8	400

RBC: hemácias; Hb: hemoglobina; VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia; WBC: leucócitos totais; Neut: neutrófilos segmentados; Linf: linfócitos; Eos: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito; PPT: proteína plasmática total; Fib: fibrinogênio

Apêndice 6. Valores individuais de celularidade, megacariócitos, relação mielóide:eritróide e das células da série eritróide na medula óssea dos bezerros de 60 dias de idade

<b>Celularidade (%)</b>	<b>Megacariócitos</b>	<b>Relação M:E</b>	<b>Rubriblastos (%)</b>	<b>Prorrubríctos (%)</b>	<b>Rubríctos (%)</b>	<b>Metarrubríctos (%)</b>
70	4	0,45	0,4	0,6	33,0	16,6
90	6	0,29	0,6	1,5	52,5	18,8
80	2	0,35	0,6	0,9	33,5	19,9
80	4	0,60	0,5	1,7	3,5	13,0
75	4	0,49	0,1	0,9	39,0	13,8
70	7	0,45	1,9	2,1	48,3	12,8
70	4	0,30	1,2	0,4	50,3	19,3
70	2	0,41	0,8	2,7	49,5	16,0
60	5	0,26	0,1	0,3	28,5	24,0
90	4	0,53	1,6	1,3	36,8	14,4
70	4	0,21	0,3	0,9	41,8	21,9
50	4	0,47	1,1	1,5	37,0	14,0
60	8	0,55	1,0	1,6	55,8	11,4
60	5	0,50	1,7	1,7	39,8	16,1
90	7	0,40	1,8	2,0	53,5	14,6

Apêndice 7. Valores individuais de células da série mielóide, série monocítica, linfócitos e plasmócitos na medula óssea dos bezerros de 60 dias de idade

Mieloblastos (%)	Promielócitos (%)	Neutrófilo Mielócito (%)	Neutrófilo Metamielócito (%)	Neut Bast (%)	Neut Segm (%)	Eos Miel (%)	Eos Meta (%)	Eos Bast (%)	Eos Segm (%)	Basof (%)	Mono/MØ (%)	Linf (%)	Plasm (%)
0,3	0,4	0,9	0,6	3,3	13,6	0,6	1,3	3,4	0,4	0,0	0,00	2,70	0,00
0,3	1,1	1,2	1,5	2,6	7,8	1,1	1,7	2,0	0,8	0,0	0,80	1,30	0,30
0,1	0,4	1,0	0,9	3,3	12,0	0,6	0,4	1,9	1,9	0,0	0,10	1,80	0,10
0,5	0,2	2,0	2,3	4,2	12,7	2,3	2,6	1,7	2,6	0,0	0,80	2,90	0,20
0,3	0,9	1,7	2,4	2,9	10,4	2,8	2,0	1,3	0,5	0,0	0,70	3,30	0,00
0,8	0,6	3,0	4,9	3,6	5,1	2,3	2,3	1,1	1,3	0,0	1,10	2,50	0,80
0,8	0,7	2,4	2,5	3,6	4,4	2,0	1,9	2,0	0,3	0,0	0,10	1,20	0,40
1,2	1,4	1,9	4,5	7,7	5,6	0,4	1,2	1,9	0,4	0,0	0,40	1,40	0,60
0,0	0,6	1,1	1,2	1,4	9,6	0,9	1,4	0,9	2,0	0,0	0,30	1,20	0,30
1,6	1,0	2,8	2,6	7,1	9,0	0,6	0,9	1,3	1,3	0,0	0,40	2,60	0,40
0,3	0,7	1,2	0,9	3,5	5,9	0,6	0,7	0,7	0,9	0,0	0,30	1,60	0,20
1,1	1,3	1,8	2,8	7,7	17,3	0,4	0,9	0,7	0,1	0,1	0,20	1,80	0,20
0,2	0,7	2,4	4,3	4,1	10,3	2,1	2,1	1,6	1,4	0,2	0,50	2,30	0,00
0,8	1,0	2,2	3,3	6,3	13,3	0,3	1,2	1,0	0,2	0,0	0,20	1,50	0,50
1,2	1,5	1,5	1,8	3,5	9,2	1,5	2,1	1,5	0,8	0,0	0,30	1,90	0,00

Neut Bast: neutrófilo bastonete; Neut Segm: neutrófilo segmentado; Eos Miel: eosinófilo mielócito; Eos Meta: eosinófilo metamielócito; Eos Bast: eosinófilo bastonete; Eos Segm: eosinófilo segmentado; Basof: basófilos; Mono/MØ: monócitos/macrófagos; Linf: Linfócitos; Plasm: plasmócitos

Apêndice 8. Valores individuais dos hemogramas dos bezerros de 90 dias de idade

<b>RBC</b> (x10 <sup>6</sup> /μl)	<b>Hb</b> (g/dL)	<b>VG</b> (%)	<b>VCM</b> (fL)	<b>CHCM</b> (g/dL)	<b>HCM</b> (pg)	<b>RDW</b> (%)	<b>WBC</b>	<b>Neut</b>	<b>Linf</b>	<b>Eos</b>	<b>Basof</b>	<b>Monoc</b>	<b>N:L</b>	<b>Plaquetas</b> (x10 <sup>3</sup> /μl)	<b>PPT</b> (g/dL)	<b>Fib</b> (mg/dL)
8,80	9,2	28	31,7	32,8	10,4	21,0	17300	5882	10726	519	0	173	0,55	406	5,8	400
8,80	9,8	30	34,1	32,6	11,1	21,4	17800	11570	5874	178	0	178	1,97	356	5,6	400
10,10	9,5	28	27,7	33,9	9,4	21,9	21900	12264	8760	0	0	438	1,40	447	5,6	600
9,50	9,1	28	29,6	32,5	9,8	20,2	8970	3677	4575	180	180	270	0,80	271	5,4	600
9,50	9,7	31	32,4	32,8	10,6	21,0	18300	5124	11346	549	0	549	0,45	240	6,0	400
11,00	10,5	33	30,3	32,6	9,8	23,0	19900	6169	10547	0	0	348	0,58	341	6,8	600
9,90	10,1	31	31,4	32,6	10,2	22,3	12400	7936	3472	496	0	496	2,29	301	6,0	600
10,40	9,6	29	27,9	33,1	9,2	23,0	11700	4797	6084	117	117	585	0,79	523	6,0	600
9,50	9,2	29	30,6	31,7	9,7	24,4	20400	8976	9792	204	0	816	0,91	524	5,8	400
8,20	10,6	32	39,9	33,1	12,9	23,9	9450	4347	4631	283	0	0	0,94	413	6,4	400
8,90	9,3	29	32,6	32,0	10,4	22,3	8210	1218	6404	164	0	406	0,19	397	5,6	200
10,70	9,8	29	27,1	33,8	9,2	25,2	10800	4860	4968	216	0	756	0,98	232	6,2	400
8,90	11,6	32	36,0	36,2	13,2	21,6	20800	5824	11232	832	624	1664	0,52	474	6,6	400
8,70	8,7	27	31,0	32,2	10,0	21,9	17500	7000	9800	175	175	175	0,71	395	6,0	400
11,60	11,7	33	28,4	35,4	10,1	23,0	19400	4462	12222	388	388	1746	0,36	523	7,0	600

RBC: hemácias; Hb: hemoglobina; VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia; WBC: leucócitos totais; Neut: neutrófilos segmentados; Linf: linfócitos; Eos: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito; PPT: proteína plasmática total; Fib: fibrinogênio

Apêndice 9. Valores individuais de celularidade, megacariócitos, relação mielóide:eritróide e das células da série eritróide na medula óssea dos bezerros de 90 dias de idade

<b>Celularidade (%)</b>	<b>Megacariócitos</b>	<b>Relação M:E</b>	<b>Rubriblastos (%)</b>	<b>Prorrubríctos (%)</b>	<b>Rubríctos (%)</b>	<b>Metarrubríctos (%)</b>
60	4	0,55	0,3	0,5	28,8	17,4
80	4	0,33	0,4	0,4	44,0	18,1
70	7	0,42	0,9	0,5	41,8	17,3
75	5	0,44	1,3	2,0	42,8	17,8
75	6	0,57	1,0	1,2	45,3	12,2
80	3	0,78	0,5	0,9	24,0	14,4
70	4	0,30	0,6	1,2	32,0	18,3
80	4	0,30	0,9	1,0	26,3	22,9
60	4	0,58	1,4	1,3	44,0	12,6
80	2	0,33	1,8	1,0	23,3	20,4
70	2	0,33	1,1	0,3	35,8	20,6
70	3	0,35	0,3	0,6	36,2	19,6
60	2	0,56	0,6	0,5	31,0	16,6
60	5	0,39	0,6	0,4	40,8	18,1
60	5	0,28	0,2	0,2	16,8	25,8

Apêndice 10. Valores individuais de células da série mielóide, série monocítica, linfócitos e plasmócitos na medula óssea dos bezerros de 90 dias de idade

Mieloblastos (%)	Promielócitos (%)	Neutrófilo Mielócito (%)	Neutrófilo Metamamielócito (%)	Neut Bast (%)	Neut Segm (%)	Eos Miel (%)	Eos Meta (%)	Eos Bast (%)	Eos Seg (%)	Basof (%)	Mono/MØ (%)	Linf (%)	Plasm (%)
0,3	0,6	1,8	1,6	2,9	18,3	1,1	1,3	1,1	1,6	0,0	0,00	1,90	0,20
0,6	0,4	0,7	1,4	3,2	10,5	0,9	0,4	1,4	1,3	0,0	0,20	2,20	0,30
0,3	0,2	1,0	2,3	5,6	13,4	1,0	1,6	0,3	0,2	0,0	0,50	1,70	0,30
1,3	1,5	1,9	3,9	5,6	10,2	1,9	0,6	1,1	0,4	0,2	0,00	0,90	0,20
0,3	0,9	2,8	4,5	3,3	13,5	2,6	1,2	1,3	0,7	0,0	0,30	2,50	0,10
0,2	1,2	2,6	1,7	5,7	18,9	2,4	1,4	1,5	1,4	0,0	0,00	2,30	0,20
0,4	0,5	0,9	1,5	2,7	9,1	0,8	0,3	0,9	1,3	0,0	0,10	3,00	0,10
0,5	1,3	1,5	1,8	3,6	7,9	0,8	0,3	1,4	1,3	0,0	0,30	1,40	0,30
0,5	1,1	3,3	4,7	3,7	11,2	2,4	1,4	1,1	0,7	0,0	0,70	2,40	0,30
0,9	0,4	1,0	1,6	3,4	11,4	0,6	0,5	1,0	0,2	0,0	0,00	2,20	0,10
0,8	0,8	2,5	1,4	4,0	9,9	0,8	0,6	1,2	0,2	0,0	0,00	1,50	0,20
0,3	0,6	0,9	0,8	3,3	11,8	0,8	0,8	1,6	1,6	0,2	0,80	1,70	0,20
0,6	0,6	1,9	2,4	5,0	15,9	0,6	0,9	1,4	1,6	0,0	0,60	1,90	0,30
0,6	0,4	1,5	4,0	3,6	8,8	0,8	2,3	2,7	0,2	0,0	0,20	1,70	0,20
0,2	2,3	1,9	1,6	2,0	9,4	0,5	0,5	0,8	0,6	0,0	0,20	1,20	0,20

Neut Bast: neutrófilo bastonete; Neut Segm: neutrófilo segmentado; Eos Miel: eosinófilo mielócito; Eos Meta: eosinófilo metamielócito; Eos Bast: eosinófilo bastonete; Eos Segm: eosinófilo segmentado; Basof: basófilos; Mono/MØ: monócitos/macrófagos; Linf: Linfócitos; Plasm: plasmócitos



Apêndice 11. Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo C4/4

<b>Idade (dias)</b>	<b>Bezerro</b>	<b>Hemácias (x10<sup>6</sup>)</b>	<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	<b>VG (%)</b>	<b>VCM (fL)</b>	<b>CHCM (g/dL)</b>	<b>HCM (pg)</b>	<b>RDW (%)</b>
<b>5</b>	43	12,70	13,7	44	34,65	31,14	10,79	22,6
	45	9,76	12,7	39	39,96	32,56	13,01	21,0
	47	9,64	10,7	35	36,31	30,57	11,1	25,4
	69	8,30	8,4	28	33,73	30,00	10,12	23,2
	78	6,32	8,4	27	42,72	31,11	13,29	20,3
	79	13,00	14,8	47	36,15	31,49	11,38	23,7
<b>15</b>	43	9,98	12,0	39	39,08	30,77	12,02	22,8
	45	10,60	10,1	37	34,91	27,30	9,53	22,5
	47	10,20	10,1	31	30,39	32,58	9,90	23,6
	69	7,66	8,2	26	33,94	31,54	10,70	22,9
	78	8,09	9,1	30	37,08	30,33	11,25	28,3
	79	12,90	14,8	44	34,11	33,64	11,47	23,7
<b>30</b>	43	9,43	10,4	33	34,99	31,52	11,03	22,9
	45	12,40	13,1	42	33,87	31,19	10,56	22,8
	47	8,42	8,1	27	32,07	30,00	9,62	24,9
	69	7,45	7,4	25	33,56	29,60	9,93	22,3
	78	9,52	10,8	33	34,66	32,73	11,34	27,8
	79	14,50	15,3	42	28,97	36,43	10,55	24,7
<b>45</b>	43	8,74	9,2	29	32,18	31,72	10,53	22,3
	45	11,40	12,2	39	34,21	31,28	10,70	23,2
	47	9,14	8,6	27	29,54	31,85	9,41	22,3
	69	7,79	8,1	25	32,09	32,40	10,40	23,7
	78	10,20	9,9	30	29,41	33,00	9,71	26,5
	79	13,50	13,9	43	31,85	32,33	10,30	24,2
<b>60</b>	43	9,50	10,7	32	33,68	33,44	11,26	21,6
	45	9,84	10,8	33	33,54	32,73	10,98	22,0
	47	9,23	9,3	27	29,25	34,44	10,08	21,6
	69	8,44	8,3	27	31,99	30,74	9,83	22,3
	78	10,10	9,1	29	28,71	31,38	9,01	25,6
	79	13,10	13,1	39	29,77	33,59	10,00	24,0
<b>75</b>	43	8,82	9,7	29	32,88	33,45	11,00	20,4
	45	8,55	9,3	29	33,92	32,07	10,88	21,7
	47	10,50	9,5	29	27,62	32,76	9,05	23,4
	69	10,20	9,8	31	30,39	31,61	9,61	21,6
	78	10,10	9,0	29	28,71	31,03	8,91	24,9
	79	10,40	10,5	32	30,77	32,81	10,10	22,9
<b>90</b>	43	8,84	9,2	28	31,67	32,86	10,41	21,0
	45	8,80	9,8	30	34,09	32,67	11,14	21,4
	47	10,10	9,5	28	27,72	33,93	9,41	21,9
	69	10,20	9,8	29	28,43	33,79	9,61	22,3
	78	9,22	8,2	25	27,11	32,80	8,89	26,4
	79	10,30	10,5	29	28,16	36,21	10,19	23,3

VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia.

Apêndice 12. Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo C6/4

Idade (dias)	Bezerro	Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	Hemoglobina (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)	RDW (%)
5	51	7,55	8,3	27	35,76	30,74	10,99	22,6
	53	6,95	7,7	25	37,21	29,70	11,09	23,0
	54	7,39	9,1	29	39,24	31,38	12,31	20,6
	56	7,34	7,0	25	34,06	28,00	9,54	23,8
	57	5,53	6,3	22	39,78	28,64	11,39	24,9
	81	6,95	7,7	26	37,20	29,69	11,06	22,9
15	51	7,96	8,4	27	33,92	31,11	10,55	23,6
	53	7,93	8,7	28	35,60	30,00	10,71	23,3
	54	8,58	10,1	32	37,30	31,56	11,77	21,7
	56	8,21	8,4	29	35,37	28,97	10,23	23,8
	57	6,98	7,1	25	35,82	28,40	10,17	24,1
	81	7,93	8,5	29	35,67	30,01	10,68	23,0
30	51	7,46	7,0	32	32,17	29,17	9,38	23,0
	53	8,25	8,9	29	35,15	30,69	10,79	24,5
	54	7,66	7,8	26	33,94	30,00	10,18	22,6
	56	7,55	7,6	25	33,11	30,40	10,07	22,3
	57	6,45	6,2	28	34,11	28,18	9,61	22,3
	81	8,55	8,5	29	33,92	29,31	9,94	30,8
45	51	10,00	9,5	31	31,00	30,65	9,50	23,3
	53	8,73	9,0	29	33,22	31,03	10,31	23,9
	54	7,47	7,4	25	33,47	29,60	9,91	22,3
	56	8,73	8,7	28	32,07	31,07	9,97	21,6
	57	8,93	9,0	29	32,47	31,03	10,08	22,3
	81	10,40	10,6	32	30,77	33,13	10,19	27,6
60	51	10,90	11,2	36	33,03	31,11	10,28	22,9
	53	9,06	9,4	28	30,91	33,57	10,38	23,3
	54	9,63	9,9	30	31,15	33,00	10,28	22,6
	56	8,17	8,5	26	31,82	32,69	10,40	20,6
	57	9,90	10,1	27	27,27	37,41	10,20	22,3
	81	10,00	10,0	33	33,00	30,30	10,00	25,4
75	51	10,90	10,7	33	30,28	32,42	9,82	23,0
	53	9,22	9,8	29	31,45	33,79	10,63	22,9
	54	8,71	8,6	27	31,00	31,85	9,87	22,3
	56	10,00	10,9	32	32,00	34,06	10,90	20,2
	57	9,88	10,5	32	32,39	32,81	10,63	21,0
	81	10,00	10,3	31	31,00	33,23	10,30	23,3
90	51	11,00	10,5	33	30,00	31,82	9,55	23,0
	53	8,50	9,4	27	31,76	34,81	11,06	23,9
	54	8,50	8,8	27	31,76	32,59	10,35	22,3
	56	9,47	9,1	28	29,57	32,50	9,61	20,2
	57	9,53	9,7	31	32,53	31,29	10,18	21,3
	81	8,41	8,6	26	30,92	33,08	10,23	22,6

VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia.

Apêndice 13. Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo C6/6

Idade (dias)	Bezerro	Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	Hemoglobina (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)	RDW (%)
5	59	9,25	11,0	39	42,16	28,21	11,89	23,0
	60	7,45	8,5	28	37,58	30,36	11,41	24,0
	66	10,30	11,5	35	33,98	32,86	11,17	23,5
	68	5,78	6,2	22	38,06	28,18	10,73	24,2
	80	7,46	8,6	28	37,53	30,71	11,53	23,1
	91	5,59	8,0	25	44,72	32,00	14,31	22,5
15	59	9,12	11,4	33	36,18	34,55	12,50	23,6
	60	7,54	8,1	27	35,81	30,00	10,74	24,7
	66	10,80	11,4	35	32,41	32,57	10,56	24,7
	68	7,40	8,5	28	37,84	30,36	11,49	25,3
	80	8,69	9,3	31	35,67	30,00	10,70	24,4
	91	8,02	9,9	33	41,15	30,00	12,34	25,3
30	59	10,00	10,9	35	35,00	31,14	10,9	23,2
	60	8,79	7,8	26	29,58	30	8,87	27
	66	11,90	12,2	37	31,09	32,97	10,25	25,4
	68	8,52	9,2	29	34,04	31,72	10,8	24
	80	11,30	12,2	37	32,74	32,97	10,8	24,2
	91	8,40	8,9	31	36,9	28,71	10,6	28,2
45	59	10,80	10,9	34	31,48	32,06	10,09	22,6
	60	12,70	11,2	35	27,56	32,00	8,82	27,0
	66	10,80	10,7	33	30,56	32,42	9,91	24,7
	68	10,20	10,6	33	32,35	32,12	10,39	23,7
	80	12,20	12,5	39	31,97	32,05	10,25	22,9
	91	10,30	10,7	33	32,04	32,43	10,39	25,9
60	59	10,50	10,8	32	30,48	33,75	10,29	21,9
	60	14,10	12,7	38	26,95	33,42	9,01	26,4
	66	10,80	10,4	31	28,70	33,55	9,63	23,3
	68	10,40	10,8	32	30,77	33,75	10,38	22,9
	80	11,30	11,3	35	30,97	32,29	10,00	21,6
	91	11,40	11,0	36	31,58	30,56	9,65	24,7
75	59	10,30	10,8	32	31,07	33,75	10,49	22,3
	60	12,60	11,6	34	26,98	34,12	9,21	24,9
	66	10,80	10,7	31	28,70	34,52	9,91	23,0
	68	9,90	10,4	31	31,31	33,55	10,51	22,3
	80	11,10	11,0	33	29,73	33,33	9,91	21,9
	91	10,30	9,9	31	30,10	31,94	9,61	24,1
90	59	9,86	10,1	31	31,44	32,58	10,24	22,3
	60	10,4	9,6	29	27,88	33,10	9,23	23,0
	66	10,1	9,7	29	28,71	33,45	9,60	22,3
	68	8,95	9,6	33	36,87	29,09	10,73	22,9
	80	9,73	9,5	28	28,78	33,93	9,76	21,6
	91	9,47	9,2	29	30,62	31,72	9,71	24,4

VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia.

Apêndice 14. Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo MF4/4

<b>Idade (dias)</b>	<b>Bezerro</b>	<b>Hemácias (x10<sup>6</sup>)</b>	<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	<b>VG (%)</b>	<b>VCM (fL)</b>	<b>CHCM (g/dL)</b>	<b>HCM (pg)</b>	<b>RDW (%)</b>
<b>5</b>	75	8,74	9,8	32	36,61	30,63	11,21	23,2
	76	5,81	6,5	23	39,59	28,26	11,19	24,6
	12	7,63	9,1	22	28,83	41,36	11,93	20,9
	13	7,05	8,0	28	39,72	28,57	11,35	20,3
	14	6,91	8,0	27	39,07	29,63	11,53	22,0
	15	7,98	8,9	31	38,85	28,71	11,15	22,5
<b>15</b>	75	9,10	9,8	31	34,07	31,61	10,77	23,2
	76	7,01	7,6	24	34,24	31,67	10,84	25,5
	12	10,30	11,2	31	30,10	36,45	10,97	22,3
	13	9,50	9,1	29	30,53	32,76	9,58	21,8
	14	10,10	10,5	30	29,70	33,67	10,40	22,5
	15	9,70	9,4	33	34,02	29,39	9,69	22,4
<b>30</b>	75	11,80	11,3	34	28,81	33,24	9,58	24,0
	76	9,23	8,8	29	31,42	30,34	9,53	25,1
	12	11,50	12,2	41	35,65	29,76	10,61	24,5
	13	8,31	8,4	27	32,49	31,11	10,11	22,6
	14	6,62	7,5	25	37,76	30,00	11,33	22,9
	15	10,30	10,9	35	33,98	31,14	10,58	24,9
<b>45</b>	75	12,90	12,7	37	28,68	34,32	9,84	24,1
	76	10,20	9,7	31	30,39	31,29	9,51	24,4
	12	10,80	10,8	35	32,41	30,86	10,00	23,9
	13	8,14	8,2	27	33,17	30,37	10,07	21,6
	14	8,54	9,3	31	36,30	30,00	10,89	21,4
	15	11,90	11,1	38	31,93	29,21	9,33	25,1
<b>60</b>	75	12,40	11,6	34	27,42	34,12	9,35	23,8
	76	10,30	10,1	31	30,10	32,58	9,81	25,1
	12	10,20	10,2	31	30,39	32,90	10,00	22,9
	13	8,73	8,8	28	32,07	31,43	10,08	22,6
	14	8,74	10,0	31	35,47	32,26	11,31	20,8
	15	11,60	10,7	33	28,45	33,42	9,22	24,6
<b>75</b>	75	13,10	12,0	35	26,72	34,29	9,16	23,8
	76	9,94	9,9	30	30,18	33,00	9,96	23,7
	12	5,32	7,2	24	45,11	30,00	13,53	28,0
	13	10,10	10,4	34	33,66	30,59	10,30	22,3
	14	8,78	9,8	31	35,31	31,61	11,16	19,9
	15	10,80	9,5	31	28,70	30,65	8,8	23,8
<b>90</b>	75	12,50	11,1	32	25,60	34,69	8,88	23,4
	76	8,78	8,8	28	31,89	31,43	10,02	22,3
	12	8,20	10,6	32	39,02	33,13	12,93	23,9
	13	8,91	9,3	29	32,55	32,07	10,44	22,3
	14	8,72	10,3	31	35,55	33,23	11,81	20,6
	15	10,70	9,8	29	27,10	33,79	9,16	25,2

VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia.

Apêndice 15. Valores individuais do eritrograma dos bezerros do grupo MG4/4

Idade (dias)	Bezerro	Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	Hemoglobina (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	HCM (pg)	RDW (%)
5	72	7,65	9,3	29	37,91	32,07	12,26	23,6
	74	5,38	6,2	21	39,03	29,52	11,52	24,2
	94	8,31	11	35	42,12	31,43	13,24	22,8
	98	6,95	8,9	27	38,85	32,96	12,81	24,9
	100	7,46	8,4	28	37,53	30,00	11,26	22,5
	26	8,85	9,9	32	36,16	30,94	11,19	21,2
15	72	8,98	11,0	35	38,98	31,43	12,25	25,0
	74	6,56	8,0	26	39,63	30,77	12,20	24,2
	94	9,32	11,9	36	38,63	33,06	12,77	23,3
	98	10,10	12,1	36	35,64	33,61	11,98	23,9
	100	9,10	9,3	32	35,16	29,06	10,22	22,0
	26	9,57	10,7	35	36,57	30,57	11,18	21,7
30	72	9,63	10,5	35	36,34	30,00	10,90	25,0
	74	7,08	7,7	25	35,31	30,80	10,88	24,4
	94	10,20	11,7	36	35,29	32,50	11,47	23,7
	98	10,20	11,6	35	34,31	33,14	11,37	25,5
	100	9,67	9,7	31	32,06	31,29	10,03	23,3
	26	10,50	10,9	36	34,29	30,28	10,38	23,6
45	72	11,00	11,6	36	32,73	32,22	10,55	24,2
	74	7,65	8,7	28	36,60	31,07	11,37	22,9
	94	10,00	10,9	33	33,00	33,03	10,90	22,3
	98	9,49	10,1	30	31,61	33,67	10,64	25,2
	100	9,37	9,2	29	30,95	31,72	9,82	22,9
	26	9,78	9,3	29	29,65	32,07	9,51	22,3
60	72	9,80	10,8	32	32,65	33,75	11,02	22,9
	74	9,35	10,8	31	33,16	34,84	11,55	21,7
	94	9,91	11,2	32	32,29	35,00	11,30	22,3
	98	10,80	11,1	32	29,63	34,69	10,28	24,3
	100	8,58	8,5	27	31,47	31,48	9,91	21,9
	26	10,10	9,6	31	30,69	30,97	9,50	22,3
75	72	9,15	9,8	30	32,79	32,67	10,71	22,3
	74	9,44	10,6	31	32,84	34,19	11,23	22,0
	94	10,40	11,9	33	31,73	36,06	11,44	22,3
	98	10,60	10,8	30	28,30	36,00	10,19	23,7
	100	9,84	9,4	30	30,49	31,33	9,55	21,6
	26	8,44	8,2	26	30,81	31,54	9,72	22,3
90	72	8,98	9,7	30	33,41	32,33	10,80	21,6
	74	9,85	10,6	31	31,47	34,19	10,76	21,4
	94	8,88	11,6	32	36,04	36,25	13,18	21,6
	98	11,60	11,7	33	28,45	35,45	10,09	23,0
	100	8,71	8,3	27	31,00	30,74	9,53	22,3
	26	8,70	8,7	27	31,03	32,22	10,00	21,9

VG: volume globular; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de variação do volume da hemácia.

Apêndice 16. Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo C4/4

Idade (dias)	Bezerro	Leucócitos totais	Neutr segm	Linfoc	Eosin	Basof	Monoc	N:L	Plaquetas (x10 <sup>3</sup> )
5	43	14200	7526	2272	1136	426	0	3,31	473
	45	8330	2582	4831	333	333	0	0,53	423
	47	5740	2181	3329	230	0	0	0,65	313
	69	10300	5871	3605	309	206	206	1,62	446
	78	7120	4913	1851	142	71	0	2,65	699
	79	18600	8928	6510	1674	0	0	1,37	373
15	43	13500	4590	7965	945	0	0	0,57	649
	45	29700	19899	7425	1188	0	0	2,68	1212
	47	7920	3485	4277	0	0	0	0,81	724
	69	13000	1950	9880	650	0	130	0,19	648
	78	7160	1504	5227	286	0	72	0,29	469
	79	24600	16728	6396	984	0	246	2,62	405
30	43	13700	1370	11645	548	0	0	0,11	473
	45	18600	9114	8184	558	372	0	1,11	306
	47	10700	6634	3424	214	0	107	1,93	569
	69	11300	4633	6554	0	0	0	0,70	280
	78	13100	7074	5764	262	0	0	1,23	419
	79	35900	26566	2513	6103	0	0	10,5	510
45	43	12200	1830	7442	2074	732	122	0,22	387
	45	10500	3045	7035	210	105	0	0,43	370
	47	10900	3597	6976	218	109	0	0,51	341
	69	11900	5117	6188	357	119	0	0,82	690
	78	7530	3916	3087	452	0	75	1,27	266
	79	20100	3216	14271	2211	201	201	0,23	569
60	43	12000	1200	10800	0	0	0	0,11	191
	45	13600	5984	7616	0	0	0	0,78	300
	47	10800	1188	8964	648	0	0	0,13	175
	69	12800	7168	4224	256	896	256	1,69	391
	78	14900	5960	7748	596	149	149	0,77	588
	79	17700	9204	7788	708	0	0	1,18	403
75	43	15100	4077	10260	0	302	0	0,39	356
	45	13900	7367	5838	139	417	0	1,26	385
	47	16500	5940	10395	0	165	0	0,57	444
	69	12900	6063	5805	129	774	129	1,04	488
	78	9830	4817	4325	688	0	0	1,11	492
	79	14600	9768	3848	888	296	0	2,54	368
90	43	17300	5882	10726	173	519	0	0,54	406
	45	17800	11570	5874	178	178	0	1,96	356
	47	21900	12264	8760	438	0	0	1,40	447
	69	13000	4940	7280	520	130	0	0,62	475
	78	9440	4626	4248	472	0	94	1,09	464
	79	16200	9234	6480	162	0	0	1,43	357

A contagem absoluta de neutrófilos mielócitos, metamielócitos e bastonetes não foram incluídos na tabela.

Neutr segm: neutrófilos segmentados; Linfoc: linfócitos; Eosin: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito

Apêndice 17. Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo C6/4

Idade (dias)	Bezerro	Leucócitos totais	Neutr segm	Linfoc	Esosin	Basof	Monoc	N:L	Plaquetas (x10 <sup>3</sup> )
5	51	12000	6600	4680	360	0	0	1,41	393
	53	6150	4060	1780	0	0	0	2,27	319
	54	11100	6993	999	0	0	0	7,00	440
	56	12500	4375	5250	1500	0	0	0,83	338
	57	7890	2683	4497	315	0	79	0,59	746
	81	5750	1500	3620	0	120	290	0,41	536
15	51	23700	13035	8295	1659	0	0	1,57	263
	53	8680	5030	2430	170	0	430	2,07	415
	54	8680	5034	2430	434	0	174	2,07	415
	56	10300	5253	4326	0	103	0	1,21	325
	57	10200	3570	4692	306	204	0	0,76	406
	81	8680	5030	2430	0	170	430	2,07	415
30	51	12600	2142	10080	378	0	0	0,21	297
	53	8270	3722	3887	331	165	165	0,95	403
	54	10700	7490	2354	0	107	214	3,18	349
	56	18000	4320	13500	180	0	0	0,32	378
	57	8520	3749	4260	341	0	0	0,88	274
	81	24300	10935	9720	2187	0	0	1,13	425
45	51	13200	3036	9240	396	0	0	0,32	321
	53	10200	3570	4386	102	2040	102	0,81	328
	54	10100	4444	4949	505	0	202	0,89	340
	56	7730	3711	3865	0	77	0	0,96	259
	57	6260	2378	3756	63	0	63	0,63	320
	81	12900	1290	8901	2064	0	258	0,14	543
60	51	22200	10656	9990	666	0	0	1,06	416
	53	9060	2990	5617	362	91	0	0,53	290
	54	15200	7904	6080	608	0	304	1,30	437
	56	9120	3648	4925	365	91	91	0,74	205
	57	8020	4010	3529	241	160	80	1,13	385
	81	7500	1950	5250	225	75	0	0,37	412
75	51	24100	13255	8676	1928	0	0	1,52	391
	53	13600	3128	4792	0	544	136	0,31	460
	54	8630	3970	4488	173	0	0	0,88	343
	56	14000	6020	7420	280	0	140	0,81	426
	57	10300	6283	3399	206	0	206	1,84	266
	81	9640	5398	3856	96	96	193	1,40	450
90	51	19900	6169	10547	348	0	0	0,58	341
	53	11400	3876	6270	114	912	114	0,61	270
	54	18000	7740	9540	360	0	0	0,81	277
	56	8970	3677	4575	270	180	180	0,80	271
	57	18300	5124	11346	549	0	549	0,45	240
	81	11400	3880	6270	910	110	110	0,61	270

A contagem absoluta de neutrófilos mielócitos, metamielócitos e bastonetes não foram incluídos na tabela.

Neutr segm: neutrófilos segmentados; Linfoc: linfócitos; Esosin: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito

Apêndice 18. Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo C6/6

Idade (dias)	Bezerro	Leucócitos totais	Neutr segm	Linfoc	Eosin	Basof	Monoc	N:L	Plaquetas (x10 <sup>3</sup> )
5	59	9100	5096	2639	728	91	91	1,93	537
	60	7980	3990	2394	1197	0	80	1,66	653
	66	8910	4455	4010	267	0	89	1,11	347
	68	12100	7986	3025	242	121	363	2,64	535
	80	9860	5028	3944	789	99	0	1,28	472
	91	10700	5671	4708	107	0	214	1,20	411
15	59	21300	10863	9159	852	0	0	1,19	370
	60	21100	14559	5064	1055	0	0	2,87	465
	66	14900	11473	2831	596	0	0	4,05	677
	68	11900	3421	5712	230	0	0	0,60	569
	80	15900	10335	4293	1272	0	0	2,41	301
	91	19100	11651	5730	955	0	191	2,03	462
30	59	10900	4796	5341	545	109	109	0,90	301
	60	15300	10251	3672	1224	0	153	2,79	521
	66	12500	6875	5125	500	0	0	1,34	687
	68	7980	2234	5187	239	160	160	0,43	378
	80	35000	24150	7350	3150	0	0	3,29	504
	91	28500	23655	3135	0	0	285	7,54	345
45	59	7690	2922	4229	154	231	154	0,69	378
	60	14400	8640	4752	144	288	576	1,81	776
	66	10600	4346	5194	636	212	106	0,83	499
	68	10100	3939	4747	404	707	303	0,82	459
	80	15000	6000	7350	900	600	150	0,82	460
	91	17200	9976	6364	516	0	344	1,56	260
60	59	17300	10899	5190	865	0	0	2,10	365
	60	15000	7050	6750	750	150	150	1,04	629
	66	11400	3990	6384	798	228	0	0,62	170
	68	13100	3799	8646	524	0	131	0,43	368
	80	19600	10192	7252	588	1176	392	1,41	390
	91	13900	5699	7228	834	0	139	0,78	426
75	59	14600	8614	4818	292	584	292	1,79	453
	60	14700	5292	8673	441	147	147	0,61	303
	66	17600	10208	6160	352	528	176	1,65	394
	68	9800	3038	5880	196	490	196	0,51	474
	80	17900	11456	5907	537	0	0	1,94	477
	91	11000	4620	5610	440	220	110	0,82	435
90	59	12400	7936	3472	496	496	0	2,29	301
	60	11700	4797	6084	585	117	117	0,78	523
	66	15100	9815	4077	302	755	151	2,40	418
	68	13600	4216	8704	544	0	0	0,48	383
	80	13900	2363	11259	139	139	0	0,21	305
	91	20400	8976	9792	816	204	0	0,91	524

A contagem absoluta de neutrófilos mielócitos, metamielócitos e bastonetes não foram incluídos na tabela.

Neutr segm: neutrófilos segmentados; Linfoc: linfócitos; Eosin: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito



Apêndice 19. Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo MF4/4

<b>Idade (dias)</b>	<b>Bezerro</b>	<b>Leucócitos totais</b>	<b>Neutr segm</b>	<b>Linfoc</b>	<b>Eosin</b>	<b>Basof</b>	<b>Monoc</b>	<b>N:L</b>	<b>Plaquetas (x10<sup>3</sup>)</b>
<b>5</b>	75	16900	10140	2028	845	0	0	5,00	524
	76	10800	3348	3024	2376	0	0	1,11	503
	12	8330	5248	1916	999	83	83	2,73	402
	13	8020	3930	2807	802	80	0	1,40	500
	14	5950	2499	3332	60	0	0	0,75	545
	15	7640	4584	2903	153	0	0	1,57	495
<b>15</b>	75	13700	8768	3288	822	274	0	2,67	454
	76	6500	3120	2340	390	65	0	1,33	459
	12	21400	7918	12626	428	0	0	0,63	876
	13	8250	2476	5363	165	82	0	0,46	927
	14	6200	248	5332	124	62	0	0,12	372
	15	14200	1136	8094	1136	0	0	0,61	640
<b>30</b>	75	20300	10962	8120	203	0	203	1,35	595
	76	10300	4532	5150	412	0	0	0,88	425
	12	12100	4719	6655	363	363	0	0,70	403
	13	13600	4624	6528	544	1768	0	0,70	402
	14	6770	2031	4671	68	0	0	0,43	307
	15	12600	6300	4914	1260	0	0	1,28	350
<b>45</b>	75	14400	9216	5040	0	0	0	1,83	548
	76	8000	3920	3920	80	0	0	1,00	503
	12	10100	3535	6161	101	303	0	0,57	259
	13	10800	4968	5076	324	432	0	0,97	333
	14	6000	2160	3180	600	60	0	0,67	311
	15	10400	3432	6656	104	0	0	0,51	571
<b>60</b>	75	16300	6031	9617	326	0	326	0,63	482
	76	6790	2716	3327	543	136	68	0,82	512
	12	7950	3975	3180	159	159	0	1,25	407
	13	9610	3267	3748	1153	961	0	0,87	381
	14	9460	1987	4635	662	1987	189	0,42	243
	15	11000	4620	6160	220	0	0	0,75	231
<b>75</b>	75	22500	15525	6075	675	0	0	2,56	377
	76	8430	5311	2782	0	84	84	1,91	439
	12	7220	2166	4621	216	0	0	0,46	262
	13	9140	2742	5575	366	274	183	0,49	424
	14	8240	2142	5521	0	412	82	0,38	298
	15	7940	3017	4764	80	80	0	0,63	374
<b>90</b>	75	21400	8346	11556	642	642	0	0,72	636
	76	13600	4624	7888	680	136	0	0,59	450
	12	9450	4347	4631	0	283	0	0,93	413
	13	8210	1218	6404	406	164	0	0,19	397
	14	8600	2752	5160	430	0	0	0,53	293
	15	10800	4860	4968	756	216	0	0,97	232

A contagem absoluta de neutrófilos mielócitos, metamielócitos e bastonetes não foram incluídos na tabela.

Neutr segm: neutrófilos segmentados; Linfoc: linfócitos; Eosin: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito

Apêndice 20. Valores individuais do leucograma e plaquetas totais dos bezerros do grupo MG4/4

Idade (dias)	Bezerro	Leucócitos totais	Neutr segm	Linfoc	Eosin	Basof	Monoc	N:L	Plaquetas (x10 <sup>3</sup> )
5	72	5840	2161	3329	350	0	0	0,64	337
	74	7230	1229	3615	506	0	0	0,86	483
	94	13900	8479	4448	139	0	0	1,90	545
	98	15600	6708	8580	312	0	0	0,78	812
	100	9240	4528	4528	92	0	0	1,00	505
	26	14500	8845	3450	145	0	0	2,03	508
15	72	15900	11925	3498	159	0	159	3,40	346
	74	9820	4615	3045	491	0	0	1,52	442
	94	28300	21225	4245	566	0	0	5,00	509
	98	14300	5148	8294	429	0	286	0,62	267
	100	8180	1963	5562	164	0	409	0,35	408
	26	17800	10324	6408	1068	0	0	1,61	426
30	72	8600	3698	4120	430	172	86	0,89	310
	74	5010	1603	3257	50	50	0	0,49	395
	94	11200	3920	6496	784	0	0	0,60	447
	98	18500	8140	8695	185	185	185	0,93	338
	100	7720	1621	6022	77	0	0	0,26	262
	26	10700	5992	3745	535	428	0	1,60	478
45	72	10800	5832	4428	324	216	108	1,29	424
	74	12600	2898	8946	630	0	0	0,32	347
	94	11600	3596	7656	0	232	116	0,46	585
	98	12700	2667	9398	127	508	0	0,28	413
	100	8260	2230	5782	248	0	0	0,38	322
	26	17100	10944	5130	171	530	0	2,13	370
60	72	8120	4141	3573	325	0	81	1,15	298
	74	9450	5386	3591	189	189	94	1,50	384
	94	8390	6124	1930	168	84	0	3,17	345
	98	13700	4521	8357	274	411	0	0,54	464
	100	7620	2286	4953	381	0	0	0,46	315
	26	13200	6336	5148	0	1716	0	1,23	330
75	72	17800	6052	11036	712	0	0	0,54	512
	74	11600	2436	8700	232	232	0	0,28	375
	94	21000	12390	8400	0	0	0	1,47	458
	98	12000	5040	6360	240	120	240	0,79	412
	100	6750	540	6075	68	0	68	0,08	394
	26	10500	3780	6510	0	210	0	0,58	417
90	72	12100	8954	2783	242	0	121	3,21	365
	74	6810	1294	4155	340	1021	0	0,31	370
	94	20800	5824	11232	1664	832	624	0,51	474
	98	19400	4462	12222	1746	388	388	0,36	523
	100	8230	494	7407	0	164	164	0,06	434
	26	17500	7000	9800	175	175	175	0,71	395

A contagem absoluta de neutrófilos mielócitos, metamielócitos e bastonetes não foram incluídos na tabela.

Neutr segm: neutrófilos segmentados; Linfoc: linfócitos; Eosin: eosinófilos; Basof: Basófilos; Monoc: monócitos; N:L relação neutrófilo:linfócito

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. Hematologic values in newborn beef calves. *American Journal Veterinary Research*, v 53, p. 944-950, 1992.
- ANDRESEN, H.A. Evaluation of leukopenia in cattle. *Journal American Veterinary Medical Association*, Schaumburg, v.156, n.7, p.858-867, 1970.
- BARRINGTON, G.M; PARISH, S.M. Bovine neonatal immunology. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice – Immunology*, v. 17, n.3, p. 463 – 476, 2001.
- BENESI F. J.. Hematologia de bezerros recém-nascidos. Influência da asfixia neonatal, do tipo do parto e da ingestão de colostro sobre a crase sanguínea. Tese de Livre-Docência, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 126 p, 1992.
- BENESI, F.J.; TEIXEIRA, C.M.C; LISBOA, J.A.N et al. Eritrograma de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. n. 32, v. 4, p. 357 – 360, 2012.
- BERRY, B.A.; CONFER, A.W.; KREHBIEL, C. et al. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: I Growth performance and health. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.82, p.845-850, 2004.
- BIONDO A.W. Hemograma de bovinos sadios da raça Nelore no primeiro mês de vida, criados no Estado de São Paulo: influência de fatores etários e sexuais. (Dissertação de Mestrado). Rio Grande do Sul – Universidade Federal de Santa Maria. 76 p., 1996.
- BIONDO, A.W; LOPES S.T.A.; KOHAYAGAWA, A. et al. Hemograma de bovinos (*Bos indicus*) sadios da raça Nelore, no primeiro mês de vida, criados no estado de São Paulo. *Ciência Rural*, v.28, p.251-256, 1998.
- BIRGEL Jr., E. H. O Hemograma de bovinos (*Bos taurus*, Linnaeus, 1758), da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado em Patologia Bovina) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 172f, 1991.
- BIRGEL Jr., E.H. et al. Influência dos fatores sexuais sobre o hemograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo: valores de referência da crase sanguínea para machos da raça Jersey. *Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFBA*, v.16, n.1, p.67-78, 1993.
- BIRGEL, E.H. Técnicas hematológicas de uso corrente em patologia clínica veterinária. **Patologia Clínica Veterinária**, Sociedade Paulista Veterinária, p.7-23, 1982.
- BITTAR, C.M.M; FERREIRA. L.S; SANTOS, F.A.P; ZOPOLLATTO, M. Desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros alimentados com concentrados de diferentes formas físicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.8, p. 1561 – 1567, 2009.
- 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.
- CALHOUN, M.L. Bone Marrow of Horses and Cattle. *Science*, v.104, 423 p., 1946.
- CHURCH, D. C. The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. New Jersey: Prentice-Hall, 564 p.,1988.
- COELHO, S.G. Criação de Bezerros. II Simpósio Mineiro de Buiatria. Escola de Veterinária – UFMG, Outubro, 2005.oo
- COLE, J.D.; ROUSSEL, A.J.; WHITNEY, M.S. Interpreting a bovine CBC: collecting a sample and evaluating eritron.

- Veterinary Medicine*, v.92, p.460-468, 1997.
- COLE, D.C.; ROUSSEL, A.J.; WHITNEY, M.S. Interpreting a bovine CBC: Evaluation the leukon and acute-phase proteins. *Veterinary Medicine*, London, v.92, n.5, p.470-478, 1997.
- CONTRERAS, P.A. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: González F.H.D. et al. (Ed). Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da UFRGS. 106p. 2000.
- COSTA, J.N.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H. et al. Fatores etários no leucograma de fêmeas zebuínas sadias da raça Nelore (*Bos indicus*). *Ciência Rural*, v.30, p.399-403, 2000.
- COVERDALE, J. A., TYLER, H. D.; QUIGLEY III, J. D.; BRUMM, J. A. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *Journal of Dairy Science* n. 87, p. 2554-2562. 2004.
- COWELL, R.L. et al. Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos. 3ªed. Ed. MedVet. p. 423-451, 2009.
- DALTON, R.G.; FISHER, E.W. Plasma and blood volumes in Ayrshire cattle. *British Veterinary Journal*. p. 115 – 117, 1961.
- DAVIS C.L.; DRACKLEY J.K. The development, nutrition, and management of young calf: Iowa: State University, 339 p., 1998.
- DE PASSILLÉ, A. M., MARNET, P. –G. LAPIERRE, H. et al. Effects of nursing on milk ejection and milk yield during nursing and milking in dairy cows. *Journal Dairy Science*, v. 91, p. 1416-1422, 2008.
- DIAZ, M. C.; VAN AMBURGH, M. E.; SMITH, J. M. et al. Composition of growth of Holstein calves fed milk replacer from birth to 105-kilogram body weight. *Journal Dairy Science*, v. 84, p. 830-842, 2001.
- DIETRICH, R.L. et al. Valores de referência para leucograma de bovinos da raça holandesa preta e branca do Paraná. *Revista do Setor de Ciências Agrárias*, v.15, n.2, 1996.
- DRACKLEY, J.K. Calf nutrition from birth to breeding. *Veterinary Clinical and Food Animal*. v. 24, p 55 – 86, 2008.
- DRACKLEY, J.K. Influence of milk and weaning programs of health, rumen, development and growth of dairy calves. In: Anais I Simpósio Internacional Leite Integral. Belo Horizonte, 26p. 2011.
- EGLI, C.P.; BLUM, J.W. Clinical, haematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling Simentaler calves held in a cow-calf operation. *Journal of Veterinary Medicine*. v.45, p. 99 – 118, 1998.
- FAGLIARI, J.J., SANTANA, A.E., LUCAS, F.A., et al. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.50, n.3, p.253-262, 1998.
- FELDMAN, B. C.; ZINKIL, J. G.; JAIN, M. C. *Veterinary hematology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1344 p., 2000.
- GALINDO, R.C.G; FERREIRA, A.F.; MENDES, E.I, et al. Eritrograma de bovinos da raça holandesa criados na Mesorregião Metropolitana do Recife: influência dos fatores sexuais e etários. *Artigo Científico*. v.3, n.3, p. 1 – 6, 2009.
- GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, p.41-45, 2005.
- GODOY, A.V.; SANTANA, A.E.; NAKAGE, A.P.M.; CÁPUA, M.L.B.; ALMEIDA, T.L.A. Perfil eletroforético de proteínas séricas do sangue do cordão umbilical de cães. *Ciência rural*, v.36, n.2, p.531-535, 2006.

- GONÇALVES, L.C.; BORGES, I. FERREIRA, P.D.S. Alimentação do Gado de Leite: Alimentação de bezerras leiteiras. Editora FEPMVZ. cap. 3. p. 50 - 67., 2009.
- GONÇALVES, R.C. et al. Influência da idade e sexo sobre o hemograma, proteínas séricas totais, albumina e globulina de bovinos sadios da raça Guzerá (*Bos indicus*). *Veterinária Notícias*, Uberlândia, v. 7, n. 1, p. 61-68, 2001.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Patologia clínica veterinária: texto introdutório. Porto Alegre - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 342 p., 2008.
- GONZÁLEZ, F.H.D; CONCEIÇÃO, T.R.; SIQUEIRA, A.J.S.; LA ROSA, V.L. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. *A hora veterinária*, v.20, p.59-62, 2000.
- GOODGER, W.J.; THEODORE E.M. Calf management practices and health management decisions on large dairies. *Journal Dairy Science*. v.69, p.580-590, 1986.
- HARVEY, J.W. Atlas of Veterinary Hematology: Blood and Bone Marrow of Domestic Animals. Philadelphia: Saunders, 228 p., 2001.
- HOLMAN, H.H. Changes associated with age in the blood picture of calves and heifers. *British Veterinary Journal*. v. 12, p. 91-104, 1956.
- HUSBAND, A. J.; BRANDON, M. R.; LASCELLES, A. K. Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, Adelaide, v. 50, n. 4, p. 491-498, 1972.
- JAIN, N.C. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, 417p., 1993.
- JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, First Edition. Cap. 7. p.178 - 207, 1986.
- JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, Fifth Edition. Cap. 166. p.1075 - 1084, 2000.
- JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, First Edition. Cap. 7. p.178 - 207, 1986.
- JASPER, J., WEARY, D. M. Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.3054-3058, 2002.
- JONES, M.L.; ALLISON, R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice*, v.23, p. 377-402, 2007.
- KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5. ed. San Diego: Academic Press, p. 117-138, 1997.
- KANEKO, J.J.; MILLS, R. Hematological and blood chemical observations in neonatal normal and porphyric calves in early life. *Cornell Veterinary*. v. 60, p. 52 - 60, 1970.
- KANEKO, J.J., SMITH, H. The estimation of plasma fibrinogen and its clinical significance in the dog. *The California Veterinarian*, v. 21, n.4, p. 21 - 24, 1967.
- KANTEK, C.E.; NAVARRO, K.G. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Varela, 206 p., 2005.
- KATUNGUKA-RWAKISHAYA, E.; LARKIN, H. KELLY, W.R. Some hematological and blood biochemical components in conventionally reared calves. *Irish Veterinary Journal*, v. 39, p. 118 - 123, 1985.
- KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S. et al. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *Journal Dairy Science*., v.90, p. 3376-3387, 2007.

- KNOWLES T.G.; EDWARDS J.E.; BAZELEY, K.J. et al. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*. v. 147, p. 593–598, 2000.
- KRISTENSEN, N. B.; SEHESTED, J.; JENSEN, S. K. Effect of milk allowance on concentrate intake, ruminal environment, and ruminal development in milk-fed Holstein calves. *Journal Dairy Science*., v.90, p. 4346-4355, 2007.
- LEE C.K.; ODELL G.V.; ELIOT F.P. et al. Postnatal loss of bovine fetal hemoglobin. *American Journal Veterinary Research*. v:32, p. 1039–1044, 1971.
- LOGAN, E.F., PENHALE, W.J., JONES, R.A. Changes in the serum immunoglobulin levels of colostrum-fed calves during first 12 weeks postpartum. *Research Veterinary Science*, v.14, p.394-397, 1973.
- LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W. SANTOS, A. P. et al. Manual de Patologia Clínica Veterinária. - 3. ed. – Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007.
- LOPES, S. T. A.; CUNHA, C. M. S.; BIONDO, A. W.; FA, L. C. *Patologia clínica veterinária*. Santa Maria: UFSM, 161 p. 1996.
- LUCCI, C. S. Bovinos Leiteiros Jovens: Nutrição. Manejo. Doenças. São Paulo: Nobel/Editora da Universidade de São Paulo, 371 p. 1989.
- MACHADO NETO, R.; CASSOLI, L.D.; BESSI, R.; PAULETTI, P. Avaliação do fornecimento adicional de colostro para bezerros. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n. 02, p. 420-425, 2004.
- MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; SUSIN, I. Concentração de imunoglobulina sérica, peso corporal e diarreia em bezerros da raça holandesa aleitados com diferentes dietas. *Turrialba, Costa Rica*, v.39, n.1, p.51-55, 1989.
- MARÇAL, W. S. Eritrograma de bovinos (*Bos taurus*, LINNAEUS, 1758), fêmeas da raça holandesa preta e branca, sadias, criadas no Estado de São Paulo. 1989. 107 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- MCGUIRK, S. M. Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.24, p.139-153, 2008.
- MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis. 2 ed. Philadelphia:Sauders, 351p., 2004.
- MINAFRA, C.S.; MARQUES, S.F.F.; STRINGHINI, J.H.; et al. Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.12, p.2691-2696, 2010.
- MIZUNO, N.S.; PERMAN, V.; BATES, F.W. et al. Life Span of Thrombocytes and Erythrocytes in Normal and Thrombocytopenic Calves. *Blood*, v. 14, p 708 – 719. 1959.
- 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, p.30-39, 2007.
- NAYLOR, J.M., KRONFELD, D.S. Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: comparison with the zinc sulfate turbidity test and single radial immunodiffusion. *American Journal Veterinary Research*, v.38, p.1331-1339, 1977.
- OBBA, E. Determinação da atividade das enzimas aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina no soro de bubalinos durante a fase de crescimento. *Veterinária e Zootecnia*, São Paulo, v.3, n.11, p. 55-68, 1991.
- OHTSUKA, H. et al. Effect of nutritional conditions on changes in leukocyte

- populations in Japanese black calves. *Journal Veterinary Medical Science*, Oxford, v.67, n.2, p.183-185, 2005.
- PAES, P.R.O.; GONÇALVES, R.C.; BARIONI, G. et al. O leucograma como indicador de estresse no desmame e no transporte rodoviário de bovinos da raça Nelore. *Ciências Agrárias*. Londrina, v. 33, n. 1, p. 305-312, 2012.
- PAES, P.R.O.; VELOSO, L.B; SANTOS. et al. Citologia de medula óssea das primeiras seis semanas de vida de bovinos da raça Holandesa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, n.2, p. 499 – 502, 2011.
- RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária**, 9.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 56-59, 2002.
- REAGAN WJ, DeNICOLA DB. Myeloproliferative and Lymphoproliferative Disorders. In: Morrison WB, eds. *Cancer in Dogs and Cats – Medical and Surgical Management*. p. 95 – 119, 1998.
- RASKIN R.E. Myelopoiesis and Myeloproliferative Disorders. In: Raskin RE, Meyer DJ. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, Update on Clinical Pathology*. Philadelphia: WB Saunders; v. 26 (5), p. 1023-1042, 1996.
- RENGIFO, S.A.; SILVA, R.A.; BOTTEON, R.C.C.M et al. Hemograma e bioquímica sérica auxiliar em bezerros mestiços neonatos e ocorrência de enfermidades. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.4, p.993-997, 2010.
- RIBEIRO, M.F.B; BELÉM, P.A.D.; PARARROYO, J.H. Hipogamaglobulinemia em bezerros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.35, n.4, p.537-546, 1983.
- ROCHA, T.G.; FRANCIOSI, C.; NOCITI, R.P. et al. Hemograma e proteínas do soro sanguíneo de bezerros Canchim-Nelore e da raça Holandesa nos primeiros 30 dias de vida. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.5, p.1250-1254, 2010.
- RUSSELL, K.E; ROUSSEL, A.J. Evaluation of the Ruminant Serum Chemistry Profile. *Vet. Clin. Food Anim.* v. 23, p. 403–426, 2007.
- SANTOS, A.P. Avaliação da hemostasia e distúrbios da coagulação. In: *Patologia clínica veterinária: texto introdutório*. Porto Alegre - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 58 – 72, 2008.
- SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BAÜMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. *American Journal Veterinary Research*, Schaumburg, v. 63, n. 8, p. 1145-1150, 2002.
- SAUBERLICH, H.E; SKALA, J.H.; DOWDY, R.P. Laboratory tests for the assessment of nutritional status. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA, 1981.
- SCHALM, O.W.; JAIN, H.J.; CARROL, E.J. *Veterinary Hematology*. 3ª ed. Philadelphia. Ed. Lea & Febiger, p. 122 – 143. 1975.
- SILVA, E.B.; FIORAVANTI, M.C.S.; SILVA, L.A.F. et al. Característica leucocitária, relação albumina/globulina, proteína plasmática e fibrinogênio de bovinos da raça Nelore, confinados e terminados a pasto. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.8, p. 2191 – 2196, 2008.
- STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. *Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária*. 2ª ed. Ed. Guanabara Koogan, 729 p., 2011.
- SUSIN, I., MACHADO NETO, R., PIRES, A.V. et al. Imunoglobulina e proteína total séricas em bezerros holandeses e mestiços. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v.16, p.588-592, 1987.
- SWEENEY, B. C.; RUSHEN, J.; WEARY, D. M. et al. Duration of weaning, starter intake, and weight gain of dairy calves fed

large amounts of milk. *Journal Dairy Science*, v. 93, p. 148-152, 2010.

TAKAHIRA, R. K. Hemostasia Veterinária. In: F.H.D, González e Campos, R. Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 49 – 64, 2003.

TÁVORA, J.P.F. Hemograma de bovinos das raças Gir, Girolando e Holandesa criados no Estado de São Paulo: estabelecimento dos valores de referência e avaliação das influências de fatores de variabilidade raciais, etários e sexuais. São Paulo, 163p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1997.

TAYLOR, J.A. Leukocyte responses in ruminants. In: FELDMAN, B.F. et al. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5.ed. Philadelphia: Wilkins, p.891-898, 2000.

TENNANT, B., HARROLD D., REINAGUERRA, M. Haematology of the neonatal calf: Erythrocyte and leukocyte values of normal calves. *Cornell Vet.* 64:516-532, 1974.

TENNANT, B.; HARROLD, D.; GUERRA, M.R. Neonatal alterations in serum gammaglobulin levels of Jersey and Holstein-Friesian calves. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, v.51, n.2, p.345-354, Sep. 1969.

THOMAS, J.S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**, 5 ed. Philadelphia: Wilkins, p.891-898, 2000.

THRALL, M.A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Ed. Roca. p. 170 – 184, 2007.

VAN AMBURGH, M. E.; SOBERON, F.; KARZSES, J. et al. Taking the long view: treat them nice as babies and they will be better adults. In: Western Dairy Management Conference, Reno, p. 141 – 157, 2003.

VECINA, J.F.; PATRÍCIO, R.F.; CIARLINI, P.C. Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães. *Ciência Veterinária nos Trópicos*. Recife – PE. v. 9, n.1, p. 31 – 35, 2006.

VEKKOJULKAISUT, H.Y. Hirvonen's thesis on acute phase response in dairy cattle. Thesis - Satu, University of Helsinki. 76p. 2000.

WEISS, D.J.; PERMAN, V.P. Assessment of the hematopoietic system in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, v.8, n.2, p.411-429, 1992.

WEISS, D.J., WARDROP, K.J. *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley-Blackwell, Iowa State, p. 958-967, 2010.

WILDE, J.K.H. The cellular elements of the bovine bone marrow. *Research in Veterinary Science*. 5:213, 1964.

WISE G.H., et al. Changes in cell volume and concentration of hemoglobin and of several inorganic constituents of the blood of calves during early postnatal development. *Journal Dairy Science*, v 30, p. 983-993, 1947.

WOODWARD, B. Protein, calories, and immune defenses. *Nutrition Reviews*, v. 56, n. 1, p. S84-S92, 1998.