



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

**A influência do stresse térmico na qualidade do colostro e na
transferência da imunidade passiva em vitelos de raça frísia**

Ana Mafalda Chaves da Cunha de Castelo Branco

Orientador(es) | A. M. F. Pereira

Maria Teresa Moreira

Évora 2022



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

**A influência do stresse térmico na qualidade do colostro e na
transferência da imunidade passiva em vitelos de raça frísia**

Ana Mafalda Chaves da Cunha de Castelo Branco

Orientador(es) | A. M. F. Pereira
Maria Teresa Moreira

Évora 2022



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora)

Vogais | A. M. F. Pereira (Universidade de Évora) (Orientador)
George Stillwell (Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária)
(Arguente)

“We have only one heart, and the same wretchedness which leads us to mistreat an animal will not be long in showing itself in our relationships with other people. Every act of cruelty towards any creature is contrary to human dignity.”

Papa Francisco, *Laudato Si'*: Sobre o cuidado da casa comum

Agradecimentos

Aos meus pais, à Tita e aos meus irmãos, por terem estado sempre do meu lado. Acompanharam todas as fases da minha vida, apoiaram todas as minhas decisões. Foram fundamentais, em especial nesta última etapa do meu percurso académico. Foram incansáveis, nunca me deixaram desistir e conseguiram suportar todo o meu mau feitio, as minhas lágrimas, os meus desabafos.

À tia Inês e ao tio Tiago, e aos manos Perloiro. Por me acolherem como uma filha e irmã e me terem feito sentir em casa desde o primeiro dia, sempre com muito carinho. Deram-me força e muitos conselhos, aprendi e continuo a aprender muito com esta família maravilhosa, que agora também faço parte.

À Patrícia, a irmã que Évora me deu. Pelo companheirismo em casa, no estudo, em Erasmus, na vida! Amiga para a vida, ouvinte, conselheira e parceira. Esteve sempre presente, nos bons e nos maus momentos, a pessoa que me conhece melhor.

Ao Francisco, por termos crescido juntos, e por ser das pessoas mais especiais que Évora me deu.

À Laura, à Mafalda e à Raquel, pela companhia no percurso académico, pelas explicações, jantares, saídas à noite, desabafos e gargalhadas.

Às minhas amigas de sempre, Andreia, Bé, Caia, Joana, Márcia e Marta. Por nunca terem desistido de mim, e por estarem presentes até hoje na minha vida.

Ao Padre Fernando pela amizade e acompanhamento espiritual.

Às minhas companheiras de Erasmus: Lucie, Pureza, Tchi, Mariana e Maria Alexandra. Por terem feito parte das melhores experiências da minha vida, e dos momentos de maior crescimento pessoal.

Ao professor Alfredo, pela orientação, conhecimentos e paciência desde a escolha do tema até à conclusão da dissertação.

À dra. Teresa, à Margarida, à Francisca, ao Martim, à Liliana e à Inês, por me terem acolhido e terem feito parte da equipa. Pelos conhecimentos transmitidos, pela a companhia e gargalhadas durante o estágio.

A todos os professores, clínicos, enfermeiros, auxiliares e à Universidade de Évora!

Resumo

O estudo foi realizado de janeiro a setembro 2020 numa exploração leiteira no Alentejo. Foram avaliados 647 colostros e 637 PT no soro dos vitelos. As variáveis estudadas foram: ITH (68,38), BRIX produzido (24,91%), BRIX ingerido (25,9%) e PT (5,31mg/l). A relação entre o ITH e o BRIX produzido, e o BRIX ingerido e as PT não foram significativas (valor-p = 0,150 e valor-p = 0,595, respetivamente). A impossibilidade de medir o ITH no interior da vacaria pode justificar a inexistências de diferenças significativas nos valores de BRIX. A climatização da vacaria terá proporcionado um conforto térmico às vacas que permitiu manterem a qualidade do colostro durante o ano. A relação entre o ITH e as PT foi significativa (valor-p < 0,001, $\rho_{\text{Spearman}} = -0,231$). A taxa de mortalidade foi mais elevada em janeiro e apresentou uma variação sazonal. As causas das mortes também variaram em função da estação do ano.

Palavras-chave: Stresse térmico, colostro, imunidade, bem-estar animal, raça frísia

The influence of thermal stress on the quality of colostrum and the transfer of passive immunity in Friesian calves

Abstract

The study was conducted from January to September 2020 on a dairy farm in Alentejo. A total of 647 colostrum and 637 TP samples in calf serum were evaluated. The variables studied were THI (68.38); produced BRIX (24.91%); ingested BRIX (25.9%) and TP (5.31mg/l). The relationship between THI and produced BRIX, and ingested BRIX and PT were not significant (p-value = 0.150 and p-value = 0.595, respectively). The impracticality of measuring the ITH inside the barn may justify the absence of significant differences in the BRIX values throughout the year. The climatization system of the barn may have provided thermal comfort to the cows that allowed them to maintain colostrum quality regardless of the season. The relationship between THI and TP was significant (p-value < 0.001, $\rho_{\text{Spearman}} = -0.231$). The mortality was highest in January and showed a seasonal variation. The causes of deaths also varied according to the season.

Key-words: Thermal stress, colostrum, immunity, animal welfare, Friesian breed

Índice

Agradecimentos.....	III
Resumo	IV
Abstract	IV
Índice gráficos	VII
Índices tabelas.....	VII
Índices de figuras	VII
Lista de abreviaturas	VIII
1. Introdução	1
1.1. O bem-estar animal	2
1.1.1. O conceito do bem-estar animal	3
1.1.2. Bem-estar das vacas de leite	4
1.1.3. Bem-estar dos vitelos de leite	5
1.2. A termorregulação e o stresse térmico.....	10
1.2.1. Causas para o stresse térmico (calor e frio)	10
1.2.2. Efeitos do stresse térmico	11
1.3. O sistema imunitário	13
1.3.1. Desenvolvimento <i>in útero</i>	14
1.3.2. Imunidade inata	15
1.3.3. Imunidade adquirida	17
1.4. O colostro.....	18
1.4.1. Produção e constituição do colostro	19
1.4.2. Fatores que influenciam a qualidade do colostro.....	20
1.4.3. Transferência de imunidade passiva (TIP).....	22
1.4.4. Maneio do colostro	23
2. Objetivos	27
3. Materiais e Métodos	27
3.1. A exploração	27
3.1.1. Organização da vacaria.....	28
3.1.2. O ciclo de produção.....	29
3.1.3. A ordenha	29
3.1.4. O período seco	30

3.1.5.	Maneio dos vitelos.....	30
3.2.	O clima.....	31
3.2.1.	Condições ambientais na vacaria.....	32
3.3.	Escolha dos animais.....	32
3.4.	Índice de temperatura e humidade (ITH).....	32
3.5.	Medição da qualidade do colostro.....	33
3.6.	Medição de proteínas totais (PT).....	33
3.7.	Análises estatísticas.....	34
4.	Resultados e Discussão.....	34
4.1.	Influência do stresse térmico na qualidade do colostro.....	34
4.2.	Influência do stresse térmico na transferência de imunidade passiva.....	38
5.	Conclusão.....	43
6.	Bibliografia.....	45

Índice gráficos

Gráfico 1. Gráfico de dispersão da T_{ar} entre janeiro e setembro de 2020.	33
Gráfico 2. Gráfico de dispersão da HR entre janeiro e setembro de 2020.	33
Gráfico 3. Variação do ITH entre janeiro e setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média.	34
Gráfico 4. Variação do BRIX produzido de janeiro a setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média.	35
Gráfico 5. Relação ITH e BRIX produzido e regressão linear entre as duas variáveis.	36
Gráfico 6. Variação do BRIX ingerido entre janeiro e setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média.	37
Gráfico 7. Variação das PT presentes no soro entre janeiro e setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média.	38
Gráfico 8. Relação BRIX ingerido e as PT e regressão linear entre as duas variáveis.	39
Gráfico 9. Relação ITH e as PT e regressão linear entre as duas variáveis.	39

Índices tabelas

Tabela 1. Estatística descritiva do THI	36
Tabela 2. Estatística descritiva do BRIX produzido	37
Tabela 3. Estatística descritiva do BRIX Ingerido	39
Tabela 4. Estatística descritiva relativa às PT	40

Índices de figuras

Figura 1. Organização da Vacaria	28
Figura 2. Caracterização do clima em Portugal Continental segundo a classificação de Koppen. https://www.ipma.pt/pt/educativa/tempo.clima/index.jsp?page=clima.pt.xml	31
Figura 3. Temperatura média no Alentejo Central ao longo de um período de 30 anos. http://portaldoclima.pt/pt/	32
Figura 4. Refratómetro BRIX digital Misco Palm Abbe #203	33
Figura 5. Centrífuga angular Nahita-Blue 2615/1 e refratómetro ótico portátil (ATC)	34

Lista de abreviaturas

AENOR - Associação Espanhola de Normalização e Certificação

AMPs – Péptidos antimicrobianos

APC's – Células apresentadoras de antigénios

ATC - Controlo automático de temperatura

BVD – Diarreia Viral Bovina

CCS – Contagem de Células Somáticas

DPP – Data Prevista de Parto

EFSA – European Food Safety Authority

EU – União Europeia

HR – Humidade Relativa do ar

Ig – Imunoglobulinas

IgA – Imunoglobulinas A

IgG – Imunoglobulinas G

IgM – Imunoglobulinas M

ITH - Índice de Temperatura e Humidade

MALT – Tecido Linfoide Associado às Mucosas

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal

SCR – Service-sire Conception Rate

T_{ar} – Temperatura do ar

Tc – Linfócitos T-citotóxicos

TCM – Teste Californiano de Mastites

Th – Linfócitos T-helper

TIP – Transferência de Imunidade Passiva

TMB – Taxa de Metabolismo Basal

TMR – *Total Mixed Ration*

WQ – Welfare Quality

1. Introdução

Nos países com maior consciência cívica, cada vez mais os procedimentos associados aos sistemas de produção animal são alvo de atenção pela população em geral, tanto a nível ambiental como a nível do bem-estar, e por isso há uma consciencialização cada vez maior dos produtores e dos consumidores para as questões da sustentabilidade ambiental e do Bem-Estar Animal. Segundo Bernard Rollin, (2019): “o conceito de bem-estar animal é um conceito ético que, uma vez compreendido, a ciência traz dados relevantes.”. Este é um tema que envolve diferentes áreas de conhecimento.

Um dos exemplos que pode originar uma diminuição dos níveis de Bem-Estar Animal são a temperatura ambiente e humidade relativa elevadas (West, 2003; Polsky & Keyserlingk, 2017; Dahl et al., 2020), cujas consequências negativas podem observar-se na redução da produção e qualidade do leite, assim como nos índices reprodutivos e na maior incidência de doenças dos bovinos leiteiros. As vacas leiteiras de mais alta produção são aquelas cuja temperatura crítica superior é mais baixa (apresentam uma zona de termoneutralidade mais reduzida), e que por isso são mais suscetíveis ao calor (Noordhuizen & Bonnefoy, 2015).

O stresse térmico pelo calor ocorre quando há uma incapacidade do animal em dissipar o calor produzido pelo metabolismo a uma velocidade adequada. Normalmente ocorre quando a temperatura ambiente é suficientemente alta para reduzir a perda de calor sensível e o animal tem de recorrer às vias de termólise evaporativa para perder o calor proveniente do metabolismo e do ambiente. Nestes casos podem ocorrer igualmente a redução da ingestão de alimentos e a redução da produção endógena de calor. Os efeitos negativos mais importantes são a diminuição da produtividade e a alteração profunda do sistema imunitário de vitelos e vacas (Dahl et al., 2020).

Relativamente à estrutura da barreira materno-fetal a placenta dos ruminantes é classificada como sindesmocorial, que não permite a passagem de imunoglobulinas (Ig) da circulação materna para a fetal. Para além disso o vitelo nasce com o sistema imunitário imaturo. Assim, o colostro tem um papel fundamental na transferência de imunidade passiva e é essencial na prevenção de infeções durante o período entre a exposição a um agente patogénico e o desenvolvimento de uma resposta imune (Chucrí et al., 2010).

O objetivo deste trabalho visa entender a importância das variações de temperatura e humidade ao longo do ano nos níveis de conforto térmico das vacas e as suas consequências na qualidade do colostro. Um segundo objetivo pretende compreender se as diferentes temperaturas e humidades interferem na absorção dos componentes do colostro com influencia na transferência de imunidade passiva.

1.1. O bem-estar animal

A domesticação dos animais nasceu de uma necessidade e o sucesso da sua criação deveu-se ao cuidado que se teve com os animais. Havia um contrato entre o homem e o animal: o homem dava acesso a alimento, água, abrigo e proteção de predadores e em troca o animal dava os produtos ou a sua própria vida. No entanto, enquanto viviam, viviam bem e em harmonia. A produção animal para além de respeitar o bem-estar animal era sustentável e preservava o ambiente (Rollin, 2019).

Com a revolução industrial os valores da agricultura tradicional foram substituídos pelos valores capitalistas de eficiência e produtividade, levando os agricultores a produzir mais do que o necessário para a sobrevivência. A tecnologia permitiu que os animais continuassem a ser cada vez mais produtivos, mesmo que o seu bem-estar não seja respeitado (Rollin, 2019). Desta forma, para melhorar os índices zootécnicos, o bem-estar dos animais foi deixado para segundo plano (Bond et al., 2012). Assim como a sustentabilidade, a agricultura como modo de vida, as pequenas comunidades rurais, os pequenos agricultores independentes, a saúde ambiental, a saúde animal e a saúde humana foram sendo danificados (Rollin, 2019).

O facto de a grande maioria da população se ter transferido do campo para a cidade, e atualmente menos de 1% da população viver da utilização dos animais, leva a que a maioria das pessoas não tenha contacto direto com animais de produção. Muitos não se deram conta da evolução da produção animal para uma produção mais industrial. O paradigma dos animais foi-se transformando, e hoje em dia o animal é maioritariamente percebido como animal de companhia (Rollin, 2019).

Desde o século XIX até ao início dos anos 60, a população não se apercebeu desta mudança e estava satisfeita com o acesso a alimentos baratos e em abundância (Rollin, 2019). Nos anos 60 com o livro “Animal Machines”, Ruth Harrison descreveu a produção animal como a aglomeração de animais em espaços muito pequenos e em ambientes contranatura (Rollin, 2019), tratados como máquinas inanimadas (Broom, 2011). Desde então os cidadãos da União Europeia (UE) começaram a tomar consciência das práticas da produção animal pouco éticas e começaram a exigir uma produção com mais respeito pelo bem-estar animal. Esta exigência levou à elaboração de uma legislação mais específica (Bond et al., 2012). Na 23ª edição do *Pig Progress* o CEO de uma empresa de indústria de suínos afirmou: “os consumidores têm a capacidade de mudar todos os aspetos da indústria pecuária”. Podemos assim concluir que as práticas agrícolas dependem do consentimento do público (Rollin, 2019).

Rollin (2019) defende que a ciência do bem-estar animal não se pode separar da ética. Então se a ciência do bem-estar animal é inseparável da ética e a ética em relação às obrigações para com os animais de produção é muito variável, então a ética que predomina e irá definir o bem-estar animal é a do consumidor.

1.1.1. O conceito do bem-estar animal

O conceito de bem-estar animal foi definido pela primeira vez em 1965: “o bem-estar animal é um termo amplo que inclui o bem-estar físico e mental do animal. Qualquer tentativa de avaliar o bem-estar deve ter em atenção os sentimentos do animal que deve derivar da estrutura e função, assim como do comportamento do próprio.” (Rollin, 2019).

Hughes (1982) definiu como o estado de saúde física e mental em que o animal se encontra em completa harmonia com o meio ambiente. Porém, esta é uma definição pouco útil a nível científico por não permitir uma avaliação quantitativa (Broom, 2011).

Em 1979 a *Farm Animal Welfare Council* (FAWC) resumiu o relatório Brambell, descrevendo “as cinco liberdades”:

1. **Ausência de Fome e Sede:** Através do acesso a água e a uma dieta que mantenha a saúde e o vigor dos animais.
2. **Livres de Dor, Ferimentos ou Doença:** Através da prevenção, do diagnóstico precoce e tratamento rápido, devem ser evitados dor e sofrimentos desnecessários aos animais;
3. **Ausência de Desconforto:** Através de um ambiente apropriado, incluindo abrigo e uma área de descanso confortável;
4. **Liberdade de Expressar Comportamento Normal:** proporcionando espaço suficiente, instalações apropriadas e companhia de animais da mesma espécie;
5. **Ausência de Medo ou Sofrimento:** assegurando condições para existirem alojamentos, maneo e pessoal devidamente qualificado de forma a evitar medos e sofrimentos desnecessários.

Broom, em 1986, descreve que o bem-estar de um indivíduo é o estado que diz respeito à tentativa de se adaptar ao ambiente (Broom, 2011). Definiu ainda o stresse como: um fator ambiental num indivíduo que sobrecarrega os seus sistemas de controlo e reduz a sua aptidão ou tem tendência para a reduzir. Quando existe stresse, há um reduzido bem-estar, no entanto, o contrário não é necessariamente verdade, visto que o stresse está relacionado com a falha de adaptação, mas um reduzido bem-estar está relacionado tanto com a dificuldade de adaptação como com a falha em lidar com o meio ambiente (Broom, 2007).

Foi depois de 1990 que se deu desenvolvimento da ciência do bem-estar animal (Broom, 2011).

As cinco liberdades ainda hoje são utilizadas como guias na produção animal, mas são também a base da legislação e de muitos trabalhos científicos, como o protocolo *Welfare Quality* (WQ). Para além de ser uma obrigação ética, as respostas a estas necessidades são essenciais para um bom funcionamento biológico do animal.

O projeto WQ, financiado pela União Europeia (UE), começou em 2004, com o objetivo de desenvolver sistemas de monitorização padronizados mais fiáveis para avaliar o bem-estar animal usando principalmente indicadores baseados no animal, que refletem a interação entre o animal e o ambiente envolvente. Os protocolos WQ referem-se a diferentes grupos de animais como bovinos, suínos e aves (Welfare Quality®, 2009; Barry et al., 2019).

Os protocolos incluem doze critérios que pretendem responder a quatro princípios que se aproximam das cinco liberdades, como referido anteriormente. Estes quatro princípios são: boa alimentação, bom alojamento, boa saúde e comportamento apropriado (Welfare Quality®, 2009).

A *European Food Safety Authority* (EFSA, 2006) dividiu os indicadores de bem-estar animal em quatro categorias: indicadores patológicos, fisiológicos, comportamentais e produtivos. Tradicionalmente, as avaliações de bem-estar animal na exploração de vacas de leite, como o “índice das necessidades animais” têm usado principalmente indicadores de manejo e ambiente (Balmford et al., 2018 citados por Barry et al., 2019). Para avaliar o bem-estar com precisão devem ser utilizados indicadores baseados no animal, como parâmetros fisiológicos de saúde, avaliação geral da aparência e medidas comportamentais que devem representar a maior parte do protocolo (Barry et al., 2019).

Em 2008 a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) descreve: “um animal encontra-se numa situação de bem-estar de boa qualidade se estiver saudável, confortável, bem alimentado, seguro, se for capaz de manifestar o seu comportamento inato [natural] e se não for afetado por estados desconfortáveis como dor, medo ou sofrimento” (European Court of Auditors, 2018), concluindo que o bem-estar requer a prevenção de doenças, o tratamento veterinário, alojamento, gestão e nutrição adequados, manejo e abate humanitário (Rollin, 2019).

O projeto WQ não desenvolveu um protocolo para vitelos de leite machos e fêmeas (Barry et al., 2019). Os protocolos existentes para vitelos de leite tendem a focar-se nas fêmeas, usando apenas indicadores de uma só categoria (baseados no animal, no ambiente ou no manejo), o que pode criar restrições à análise (Barry et al., 2019). Apesar de não haver protocolos, existe uma diretiva (2008/119/CE) europeia relativa às normas mínimas de proteção de vitelos.

Barry et al. (2019) desenvolveram e avaliaram um protocolo de avaliação de bem-estar para vitelos dos dois géneros desde o nascimento até ao desmame. Chegaram à conclusão que um protocolo prático e eficiente deve combinar indicadores de três categorias: indicadores com base no animal como base da avaliação do bem-estar animal e indicadores de ambiente e manejo como base na identificação de fatores de risco. A aplicação deste protocolo a um grande número de explorações permite a identificação de potenciais fatores de risco

1.1.2. Bem-estar das vacas de leite

Segundo o painel científico da EFSA (2009), a seleção genética a longo prazo para uma maior produção de leite é o fator que mais afeta o bem-estar e a saúde de vacas leiteiras, sendo o

sistema de produção de uma exploração leiteira também um fator determinante tanto a nível de alojamento e equipamento utilizados, como a nível de práticas de gestão e manejo.

A seleção genética uni-direcionada para uma maior produção de leite levou a uma mudança na forma e no tamanho das vacas e consecutivamente no espaço que necessitam. A vulnerabilidade a impactos mecânicos e feridas também aumentaram. Também a incidência de claudicações, mastites, problemas reprodutivos, metabólicos e comportamentais aumentaram (EFSA, 2009).

A temperatura ambiente, a qualidade do ar, a luminosidade e os ruídos são alguns dos fatores ambientais que também influenciam o bem-estar e a saúde de um bovino leiteiro (OIE, 2017).

Em condições de bem-estar as vacas leiteiras podem expressar o máximo do seu potencial genético. Estas condições implicam boas condições de saúde e nutrição adequada, livre de stresse e um ambiente confortável (Sant'Anna et al., 2014). Assim como, fatores de manejo adequadas, incluindo o projeto do sistema de produção, o manejo ambiental e as práticas de manejo animal (OIE, 2017).

As boas práticas de manejo incluem pessoal experiente e treinado para que possuam competências práticas necessárias e o conhecimento do comportamento, manejo, saúde, biossegurança, necessidades fisiológicas e bem-estar de uma vaca leiteira. É essencial a existência de tratadores suficientes para garantir que as tarefas diárias sejam desempenhadas rapidamente e com qualidade (OIE, 2017).

1.1.3. Bem-estar dos vitelos de leite

A produção de vitelos de leite é das atividades mais complexas numa exploração leiteira, sendo que, a primeira fase de vida dos vitelos (do nascimento ao desmame), é uma fase sensível, suscetível a diferentes problemas de manejo e de doenças que podem penalizar a sua saúde e o seu bem-estar no presente e no futuro e fundamental para o sucesso da exploração (Paranhos da Costa & Silva, 2014).

A EFSA (2006) considera os fatores de maior risco no bem-estar de vitelos criados em sistemas intensivos:

- i. o momento de ingestão de colostro;
- ii. a ventilação, a circulação de ar, a velocidade do ar e a temperatura inadequada;
- iii. a exposição a agentes patogénicos que causem doença respiratória e gastrointestinal;
- iv. a ausência de “all in – all out” após mudança de grupos;
- v. a mistura de vitelos de diferentes origens.

Em geral, as necessidades dos vitelos, passam pela manutenção da integridade do corpo enquanto crescem e se preparam para a vida adulta. Para isso, o alojamento, a alimentação e o manejo são fatores relevantes no seu desenvolvimento e bem-estar (EFSA, 2006).

1.1.3.1. Alojamento

O alojamento e o ambiente em que o vitelo se encontra podem afetar o seu bem-estar (EFSA, 2006), sendo dos principais fatores na patogénese de doenças infecciosas (Ježek et al., 2019). O alojamento continua a ser um fator limitante em muitas explorações (Moran, 2002).

O tipo de alojamento é relevante. O alojamento individual pode facilitar a monitorização e a saúde de vitelos muito jovens e minimizar o risco de disseminação de doenças, todavia o desmame deve ser feito em grupos (OIE, 2017).

No alojamento individual, tanto o espaço como o formato da casinha são importantes. O formato da casinha afeta a utilização do espaço pelo animal (EFSA, 2006), e consecutivamente a falta de espaço aumenta o desconforto do vitelo (Hristov et al., 2011).

A casinha deve ser retangular e estar dividida em diferentes áreas de utilização (EFSA, 2006), com espaço suficiente para o vitelo dar a volta, deitar-se, levantar-se, *grooming* e ver outros animais (OIE, 2017). Segundo a diretiva 2008/119/EC de 18 de dezembro de 2008.

Os vitelos são animais sociáveis e procuram a companhia de outros vitelos, por essa razão as interações sociais são importantes no bem-estar animal dos vitelos (Moran, 2002). Quando as interações sociais aumentam os vitelos têm menos medo em situações ambientais diferentes e novas socializações (Ježek et al., 2019). Vasseur et al. (2010) explica que o alojamento de grupo aumenta a interação social e há maior disponibilidade de espaço, que facilita o exercício físico e permite um comportamento mais natural. Segundo a diretiva 2008/119/EC de 18 de dezembro de 2008, a área disponível por vitelo deve ser de 1,5 m² até aos 149 kg de peso corporal, 1,7 m² dos 150 kg aos 219kg de peso corporal, e de 1,8 m² a partir dos 220 kg de peso corporal (DGAV, 2018).

Os vitelos muito jovens são muito sensíveis a baixas temperaturas (OIE, 2017), as temperaturas de conforto térmico variam entre os 5°C e os 26°C (EFSA, 2006). Para controlar as perdas de calor é importante ter a quantidade suficiente de material de cama, fornecer alimentação adaptada às suas necessidades para fornecer energia suficiente e disponibilizar uma proteção que permita a conservação do calor e garanta um crescimento adequado (OIE, 2017).

O tipo de piso e o material da cama influenciam tanto o conforto físico como o conforto térmico do animal. O piso deve estar seco e ser confortável. Deve ser fácil de limpar e ter uma boa drenagem. O material de cama deve ser absorvente e igualmente confortável. (Moran, 2002; EFSA, 2006; Hristov et al., 2011; Dairy Australia, 2017). Em climas frios, alimentos com alto valor de energia devem ser oferecidos (Moran, 2002).

A circulação do ar, temperatura e humidade do ar e a baixa qualidade do ar são outros dos fatores que influenciam muito o bem-estar dos vitelos (EFSA, 2006; Hristov et al., 2011). As doenças respiratórias são a segunda maior causa de morbilidade e mortalidade na criação de vitelos. A ventilação tem um papel crucial na redução de doenças respiratórias e temperaturas abaixo dos 5°C podem comprometer a função pulmonar. É de extrema urgência a realização de

mais estudos para desenhar o sistema de ventilação apropriado para melhorar a saúde e bem-estar dos vitelos em regime intensivo. O alojamento, a ventilação e o manejo devem ter como objetivo a redução da concentração de odores, poeiras, microorganismos e endotoxinas presentes no ar (EFSA, 2006).

1.1.3.2. *Alimentação*

O fator que mais afeta o bem-estar dos vitelos é a administração do colostro no momento inadequado (EFSA, 2006) e em volume insuficiente (Hristov et al., 2011).

O consumo de colostro de boa qualidade nas primeiras horas de vida é essencial para a transferência de imunidade passiva (Moran, 2002; Ježek et al., 2019). A administração de colostro de boa qualidade, no momento e volume certos é o fator mais importante para a prevenção de doenças e redução da taxa de mortalidade dos recém-nascidos (Godden et al., 2019).

Para alcançar boas taxas de crescimento e um desenvolvimento e função ótima do rúmen, é importante assegurar que os vitelos sejam alimentados com quantidades suficientes de leite e concentrado de boa qualidade (Dairy Australia, 2017), importante para o desenvolvimento das papilas ruminais assim como a habitação da microflora intestinal .

O trato digestivo do recém-nascido não está totalmente desenvolvido, e o leite é rico em nutrientes de alta digestibilidade e qualidade (Moran, 2002). Sendo, por isso, essencial para um crescimento saudável e bem-estar do vitelo (OIE, 2017). Os vitelos devem ser diariamente alimentados com quantidades suficientes de leite para garantir os seus requerimentos de manutenção e crescimento (Moran, 2002).

Moran (2002) recomenda que a temperatura do leite não exceda a temperatura corporal. Mas, segundo a Dairy Australia (2017), a temperatura do leite não é muito importante desde que seja consistente. No entanto, segundo Ježek et al. (2019), baixas temperaturas do leite podem causar diarreias, sendo a temperatura adequada importante na digestão.

O acesso a água de qualidade assim como a administração suficiente de alimentação sólida é de extrema importância para o bem-estar dos vitelos (Hristov et al., 2011; OIE, 2017).

A água é uma das necessidades básicas dos vitelos, e deve estar permanentemente acessível, fresca e livre de contaminantes (OIE, 2017) desde o nascimento (Dairy Australia, 2017). A ingestão de água desde o nascimento pode aumentar o crescimento e o desenvolvimento dos vitelos antes e depois do desmame, porque estimula o desenvolvimento do rúmen, aumentando a disponibilidade de nutrientes (Wickramasinghe et al., 2019 citados por Ježek et al., 2019).

Uma alimentação exclusivamente líquida até às quatro/seis semanas limita o desenvolvimento fisiológico do rúmen (OIE, 2017). A introdução de concentrado deve ser feita desde o primeiro dia e a introdução de forragens de boa qualidade pode ser feita com três semanas de idade (Dairy Australia, 2017).

A partir das duas semanas de idade os vitelos devem ter porções diárias de fibra e concentrado para promover o desenvolvimento do rúmen, reduzir comportamentos orais anormais, estimular a atividade ruminal normal (EFSA, 2006; OIE, 2017), e reduzir o stresse do desmame (Moran, 2002). A fibra não deve exceder os 10% da dieta dos vitelos antes do desmame (Dairy Australia, 2017).

A alimentação sólida deve ser equilibrada nas quantidades de fibra, de forma a promover a ruminção, na proteína e nos hidratos de carbono que estimulam o desenvolvimento do rúmen e suportam o funcionamento saudável do sistema digestivo (EFSA, 2006).

Para prevenir diarreias e proteger a saúde e o bem-estar dos vitelos, é importante que as práticas de alimentação sejam higiénicas, incluindo a higiene dos equipamentos utilizados (Moran, 2002).

1.1.3.3. *Maneio*

A melhor forma de criar um vitelo é deixá-lo com a mãe permitindo que possa mamar, pastar e interagir com outros vitelos (EFSA, 2006). No entanto, em sistemas de produção de leite, são usadas diferentes estratégias para separar o vitelo da mãe (OIE, 2017).

A separação do vitelo da sua progenitora é stressante tanto para o recém-nascido como para a mãe. As estratégias de separação utilizadas incluem a separação precoce, que ocorre geralmente entre as primeiras 48 horas após o nascimento, ou a separação mais gradual que permite que o vitelo permaneça mais tempo com a mãe para que continue a mamar (OIE, 2017).

Quando o vitelo é separado da mãe precocemente, evidências indicam que é benéfico deixar a vaca lambe completamente o vitelo após o nascimento. Por essa razão, quando possível, as vacas devem ter a oportunidade de lambe o filho durante pelo menos três horas após o nascimento (EFSA, 2006).

O desmame é particularmente stressante para o vitelo (Vasseur et al., 2010). Este deve ser realizado gradualmente e apenas quando o sistema digestivo do vitelo estiver suficientemente desenvolvido para evitar interrupções no crescimento, e alterações na saúde e no bem-estar (Moran, 2002; OIE, 2017). Os produtores de leite devem ser aconselhados por um especialista relativamente ao período e ao método mais apropriado para efetuar o desmame para o seu tipo de sistema de produção (OIE, 2017).

A monitorização da taxa de crescimento dos vitelos e da ingestão de concentrado é muito importante para determinar a melhor altura do desmame. As vitelas desmamadas precisam de uma dieta de alta qualidade, com adequado teor energético e proteico de elevado valor biológico, para alcançar o peso necessário para reprodução (Dairy Australia, 2017).

O desmame pode ser uma boa oportunidade para introduzir os vitelos ao alojamento de grupo (Moran, 2002). Os animais devem ser agrupados com idade e peso semelhante (OIE, 2017), de forma a reduzir a competição por comida e permitir uma observação e maneio mais uniforme (Moran, 2002).

Especial atenção deve ser tomada ao tamanho dos grupos, acesso à comida, cama, localização do leite, acomodação auxiliar, iluminação, entradas e saídas de ar, instalações de manejo e baias para aliviar problemas de saúde, stresse e agressividade (Moran, 2002). O *cross-sucking* deve ser monitorizado quando os vitelos se encontram em grupos e medidas apropriadas devem ser tomadas para o prevenir (OIE, 2017).

Algumas práticas de manejo como a castração, o corte de caudas, a descorna, a remoção de tetos extra e a identificação são realizadas rotineiramente por razões de manejo, bem-estar animal e segurança dos trabalhadores (OIE, 2017).

Estes procedimentos causam dor ao animal, e por isso é importante que estes sejam realizados de forma a causar o mínimo de stresse, devem ser realizados o mais cedo possível e usando anestesia ou analgesia por um médico-veterinário ou sob recomendação ou supervisão do mesmo (OIE, 2017).

Para aumentar o bem-estar relativamente a estes procedimentos a necessidade dos mesmos devem ser revistos, selecionar animais que não o necessitem ou substituir os procedimentos por alternativas que garantam maior bem-estar (OIE, 2017).

Medidas preventivas devem ser implementadas para as doenças mais comuns na exploração, como diarreias e broncopneumonias, que ocorrem frequentemente nos primeiros seis meses de vida. Essas medidas requerem uma abordagem sistemática melhorando as condições de manejo e as instalações, incluindo a preparação da vaca, a higiene do ambiente do parto, cama limpa e seca, fornecimento imediato de anticorpos maternos, não misturar animais mais velhos, assim como a vistoria regular e uma rápida resposta a qualquer sinal indicativo de doença (EFSA, 2006; Dairy Australia, 2017; OIE, 2017).

O desenvolvimento de protocolos de tratamento para as doenças mais comuns da exploração e a preparação dos trabalhadores para os implementar, irá ajudar na rápida intervenção dos mesmos e a sua consistência. A manipulação de vitelos doentes deve ser realizada de forma a minimizar os riscos de infeção de vitelos saudáveis (Dairy Australia, 2017).

Os produtos utilizados, como medicamentos e vacinas, devem ser armazenados e administrados de acordo com as instruções do fabricante (Moran, 2002; Dairy Australia, 2017).

Os métodos de eutanásia de vitelos devem garantir o bem-estar animal e os trabalhadores devem ser treinados (Dairy Australia, 2017).

Os trabalhadores devem ser treinados para que tenham aptidão necessária na criação de vitelos. Devem ter uma atitude positiva na abordagem com o animal e trabalhar com eles para minimizar o stresse e manter o controlo da sua saúde (EFSA, 2006).

1.2. A termorregulação e o stresse térmico

Quando há uma ameaça à homeostase do animal este desencadeia uma resposta biológica conhecida como o stresse. No caso do stresse térmico o agente de stresse é o ambiente térmico, representada pela temperatura do ar, pela radiação solar, pela humidade e pelo movimento do ar (Prasad et al., 2012).

Os mamíferos são animais homeotérmicos, e por isso são capazes de manter a temperatura corporal constante mesmo quando há mudanças significativas na temperatura ambiente. Os animais utilizam diversas estratégias para regular a sua temperatura (Robinson, 2013).

Em condições normais a estratégia básica de termorregulação consiste em manter a temperatura corporal superior à do meio ambiente e permitir que o calor dissipe, utilizando a condução, convecção, radiação e evaporação. A condução, convecção e radiação são as vias sensíveis de perda de calor que precisam de um gradiente térmico para ocorrer. A evaporação resulta num gradiente de pressão de vapor, definida pela perda de calor insensível (Collier et al., 2006).

As atividades dos tecidos resultam de processos físico-químicos sensíveis à temperatura, sendo este o fator que mais afeta a sua função. Os processos metabólicos resultam em calor. A taxa de metabolismo basal (TMB) é a taxa de energia metabólica medida sob o mínimo stresse quando o animal se encontra em jejum. Quanto maior o peso corporal maior a produção de calor, ou seja, maior TMB (Robinson, 2013).

A suscetibilidade ao stresse térmico pelo calor aumentou ao longo dos anos, visto que a produção de leite por vaca duplicou, e por isso a produção de calor metabólico por animal também aumentou (Collier et al., 2006).

A estimativa das condições ambientais na performance dos animais tem sido preferencialmente feita pelo uso do índice de temperatura e humidade (ITH), que relaciona a temperatura do ar e a humidade relativa, ou em alternativa a temperatura do ponto de orvalho.

Os valores de ITH ideais em vitelos e novilhas ainda não são bem conhecidos, por falta de informações disponíveis sobre ITH e stresse térmico pelo calor nestas fases da vida (Wang et al., 2020).

1.2.1. Causas para o stresse térmico (calor e frio)

O stresse térmico pelo calor ocorre quando o animal não é capaz de dissipar calor suficiente para manter a homeostase (Ganaie et al., 2013; Dahl et al., 2020).

A temperatura ambiente, a radiação solar, a humidade relativa, e a velocidade do vento, são os fatores ambientais que mais têm efeitos diretos e indiretos nos animais domésticos (Collier et al., 2019). A temperatura e humidade elevada são fatores limitantes da produção e do bem-estar animal numa exploração leiteira (West, 2003; Polsky & Keyserlingk, 2017; Dahl et al., 2020).

Pelo contrário, apesar de conseguirem manter a temperatura corporal numa grande variedade de ambientes, e de permanecerem ativos durante os períodos mais frios do ano, o custo termorregulador pode ser bastante elevado. Devem manter uma alta taxa metabólica, para fornecer o calor necessário para manter a temperatura corporal, o que requer um consumo elevado de energia e por isso uma constante procura por alimento, refletindo-se numa redução de performance (Robinson, 2013).

1.2.2. Efeitos do stresse térmico

O stresse térmico tem um grande impacto tanto na performance como no bem-estar das vacas leiteiras. Tem impacto na produção, no sistema imunitário e na saúde ao longo do ciclo de vida (Dahl et al., 2020). Para além disso, uma temperatura ambiente e a humidade relativa do ar elevadas causa desconforto e aumenta os níveis de stresse, resultando na depressão das atividades metabólicas e fisiológicas do animal (Ganaie et al., 2013). O stresse térmico tem também efeito acentuado no sistema endócrino (Collier et al., 2019).

Os animais sempre que são forçados a mudar de ambiente térmico durante tempo suficientemente longo ou suficientemente intenso, desenvolvem um processo de arrefecimento fisiológico e anatómico que pode apresentar várias formas, designadamente a aclimação, aclimatização e adaptação. A aclimação é a resposta fenotípica desencadeada pelo animal a um stressor específico do ambiente, induzida por alterações repentinas. É raro, apenas um dos fatores ambientais variar, por isso normalmente o animal sofre aclimatização (Collier et al., 2019).

A aclimatização é a resposta coordenada a diferentes stressores ambientais simultaneamente conduzido pelo sistema endócrino que coordena o metabolismo para suportar um novo estado fisiológico (Collier et al., 2019), e é caracterizado por um conjunto de reações que alteram a resposta dos tecidos aos estímulos ambientais (Salgueiro & Almeida, 2016). As hormonas responsáveis pela aclimatização, denominadas por reguladores homeoréticos, também participam nas alterações do fotoperíodo. Estes reguladores são as hormonas da tiroide, a prolactina, somatotropina, glucocorticóides e mineralocorticóides (Collier et al., 2006).

Este é um processo que pode demorar algumas semanas e ocorre em duas fases (Salgueiro & Almeida, 2016). A primeira fase é conduzida por uma resposta homeostática e a segunda fase é um processo homeotérmico conduzido pelo sistema endócrino (Collier et al., 2019). A primeira fase promove a diminuição da ingestão de alimento e da produção, a alteração da circulação sanguínea e o aumento da libertação de calor pela via evaporativa. A segunda fase é iniciada apenas se o stresse térmico continuar ocorrendo uma reprogramação da expressão génica e da resposta celular assim como alterações endócrinas (Salgueiro & Almeida, 2016).

Um ITH muito elevado diminuiu significativamente a produção diária de leite, gordura, proteína e lactose em novilhas e vacas em terceira lactação ou superior. Sendo que na segunda lactação esta diminuição não foi significativa (Gantner et al., 2010).

Durante um período de stresse térmico pelo calor, o tempo que o animal permanece deitado diminui relativamente a um período sem stresse térmico. Herbut e Angrecka (2018) mostraram que, quando o ITH médio diário é acima dos 73 a relação entre o ITH e o tempo que o animal permanece deitado é inversamente proporcional. Também observaram que, tanto a percentagem de vacas deitadas como o tempo médio que as vacas permanecem deitadas, reduziu significativamente no período de stresse térmico pelo calor. Esta dependência é inversamente proporcional ao nível de ITH.

Uma vaca gestante no período seco está menos sujeita ao stresse térmico por não se encontrar em lactação. No entanto, os vitelos nascidos de vacas em stresse térmico têm um reduzido peso ao nascimento e há uma redução na produção da lactação seguinte (Collier et al., 2006).

Durante o período seco a frequência respiratória e a temperatura rectal aumentam quando o animal se encontra em stresse térmico, assim como há uma redução da produção de leite, de proteína e de gordura na lactação seguinte (Fabris et al., 2019).

No último terço da gestação, a exposição da mãe ao stresse térmico pelo calor, pode reduzir a sobrevivência e a produção de leite da filha (Laporta et al., 2020).

A função do sistema imunitário da mãe e do vitelo, o desenvolvimento da glândula mamária, o desenvolvimento da placenta e o crescimento fetal são afetados, existindo ainda efeitos residuais no metabolismo no início da lactação assim como na lactação subsequente. Além disso, ainda afeta negativamente a competência do sistema imunitário do vitelo influenciando a mortalidade e morbidade de vacas em início de lactação e dos seus vitelos desde o nascimento ao parto (Tao & Dahl, 2013; Dahl et al., 2020).

O feto tem capacidade reduzida para regular a sua temperatura corporal, e por isso quando a mãe é exposta a um elevado ITH pode criar um ambiente intrauterino subótimo para o seu desenvolvimento, sendo que a temperatura fetal é primariamente definida pela temperatura materna (Schroder & Power, 1997; Dahl et al., 2020).

A composição do colostro de primíparas pode ser afetado significativamente pela exposição a temperaturas elevadas no fim da gestação e no início do pós-parto. Porém, Nardone et al. (1997) afirmam que a concentração de imunoglobulinas no colostro produzido em condições de stresse térmico não se encontraram abaixo dos mínimos para a imunização dos vitelos.

O stresse térmico pelo calor também tem um impacto direto na imunidade passiva e celular dos recém-nascidos, que explica a maior taxa de mortalidade neonatal de vitelos durante o Verão, enquanto que as novilhas apresentam uma redução no crescimento durante os períodos de maior calor (Dahl et al., 2020).

O Verão está associado a um aumento da incidência de doenças durante a lactação, que pode resultar maioritariamente da redução da função das células imunitárias (Dahl et al., 2020).

Os vitelos e as novilhas são mais resistentes ao stresse térmico pelo calor do que animais adultos e em produção, porque têm menor produção de calor metabólico e uma maior eficiência na dissipação de calor. Apesar disso, também podem sofrer de stresse térmico em algum momento havendo a diminuição da ingestão de matéria seca e da taxa de crescimento, apresentando uma alteração no equilíbrio ácido-base, devido ao aumento da frequência respiratória e da respiração ofegante que acelera a perda de dióxido de carbono, que acentua a tendência para alcalose respiratória (Dahl et al., 2020).

1.3. O sistema imunitário

A principal função do sistema imunitário é a proteção do animal contra os inúmeros agentes infecciosos como bactérias, vírus, fungos, protozoários e helmintes, que podem causar doença e morte. Está relacionado com a inflamação e com a regeneração dos tecidos corporais, podendo também iniciar uma resposta contra células disfuncionais (Day & Schultz, 2014).

Os dois mecanismos de defesa desenvolvem-se progressivamente *in útero*: o adquirido e o inato. O adquirido depende do reconhecimento do antigénio (qualquer substância capaz de estimular as células imunitárias T e B para induzir uma resposta imune) (Ahmed & Schuring, 2013b). O inato atua independente deste reconhecimento. Estes mecanismos de defesa normalmente atuam independentemente um do outro, mas podem atuar em conjunto providenciando uma maior proteção do que quando atuam individualmente (Barrington & Parish, 2001; Dahl et al., 2020).

Todas as células do sistema imunitário são provenientes das células multipotentes localizadas na medula óssea de ossos longos. Estas células dão origem ao tecido linfóide e ao tecido mieloide. O tecido linfóide dá origem aos linfócitos T e B, às células assassinas e às células dendríticas linfóides. O tecido mieloide dá origem aos eosinófilos, aos monócitos (que se diferenciam nos tecidos em macrófagos) e aos basófilos (Ahmed & Schuring, 2013b).

A imunidade inata é a primeira linha de defesa, e aquela que previne a invasão de microrganismos, e que mantém a hemóstase corporal e contribui para a ativação da resposta imune adquirida (Romo et al., 2016). Na primeira linha de defesa do organismo encontram-se as barreiras físicas e as barreiras químicas que conseguem controlar eficazmente a maioria dos antigénios, e na segunda linha de defesa encontram-se as células fagocitárias e as células assassinas que conseguem eliminar eficazmente os antigénios invasores (Ahmed & Schuring, 2013a).

As células dendríticas são a ponte entre os sistemas imunes inato e adquirido (Day & Schultz, 2014). São estas células que interagem com as células T e B induzindo uma resposta específica, a última linha de defesa do organismo (Ahmed & Schuring, 2013a).

1.3.1. Desenvolvimento *in útero*

Em todos os mamíferos o desenvolvimento de um sistema imunitário funcional e maduro envolve uma série de acontecimentos sequenciais e coordenados que começam no embrião/feto e continuam após o nascimento (Holsapple et al., 2003).

No caso dos bovinos este desenvolvimento progressivo começa com a concepção na fase embrionária e continua progressivamente no útero na fase fetal, atingindo a maturidade até aproximadamente seis meses após o nascimento (Chase et al., 2008).

Todas as células envolvidas nos mecanismos de defesa são originárias das mesmas células estaminais hematopoiéticas multipotentes (Barrington & Parish, 2001).

Os mecanismos de defesa inata vão aumentando a sua eficácia ao longo da gestação, e estão funcionais ao nascimento, podendo ser reduzidos ou suprimidos pelo stresse, pela má nutrição, por infeções de baixo nível ou exposição a toxinas (Barrington & Parish, 2001).

Os neutrófilos e os macrófagos mantêm-se no seu local de origem, até aos 130 dias de gestação, contribuindo pouco na resposta imunitária fetal. Para além, disso o aumento do cortisol fetal no parto diminui a sua função (Barrington & Parish, 2001).

As proteínas do complemento estão presentes ao nascimento, apesar de serem metade das encontradas nos bovinos adultos (Barrington & Parish, 2001).

Aos 60 dias de gestação os interferões podem ser induzidos, assim como todos os componentes celulares da imunidade adquirida (Wilson et al., 1996; Charleston et al., 2001).

Estudos recentes revelaram que os órgãos linfoides primários estão presentes no primeiro trimestre de desenvolvimento fetal. Aos 42 dias de gestação o timo já se encontra estruturalmente presente, o baço aos 55 dias e alguns linfonodos periféricos aos 60 dias. (Schultz et al., 1973)

Independentemente da exposição e estimulação pelo antigénio, no primeiro trimestre de gestação os linfócitos T e B deslocam-se dos órgãos linfáticos primários para os órgãos linfáticos secundários (Barrington & Parish, 2001). Enquanto que o tecido linfoide secundário é desenvolvido durante o segundo e o terceiro trimestre, a partir deste momento o feto é capaz de montar uma resposta humoral a um certo número de agentes patogénicos que podem ser encontrados no útero (Day & Schultz, 2014).

O tecido linfoide desenvolve-se mais rapidamente na presença de antigénios virais ou bacterianos (Schultz et al., 1973). Quando o feto é exposto a um antigénio estranho, a reação imunológica ocorre dependendo do estado de desenvolvimento fetal e da natureza do próprio antigénio. Aos 120 dias pode haver o desenvolvimento de anticorpos contra a *parainfluenza-3*, mas não contra outros vírus ou bactérias; aos 190 dias contra a diarreia viral bovina (BVD) e ao nascimento contra a *Brucella abortus*. Na altura do parto o vitelo é capaz de responder a uma

grande variedade de antígenos, mas não a tantos como num sistema imunitário maduro (Barrington & Parish, 2001).

Quando o feto é infetado podem ocorrer três tipos de reação: morte, infecção persistente ou combate da infecção. A morte fetal ocorre geralmente no primeiro trimestre de gestação quando o feto não consegue montar uma resposta imunitária. A infecção persistente resulta numa pequena ou nenhuma produção de anticorpos. O combate à infecção é possível quando os linfócitos já se diferenciaram e conseguem reconhecer o antígeno invasor (Barrington & Parish, 2001).

Apesar dos recém-nascidos serem capazes de montar uma resposta imunitária, esta não é efetiva devido à imaturidade dos mecanismos de defesa e à demora na iniciação e da produção dos mecanismos necessários para gerar uma resposta humoral e celular. Ou seja, a resposta inicial é geralmente demorada e com baixa concentração de imunoglobulinas produzidas (Barrington & Parish, 2001).

Ao nascimento, os órgãos linfoides primário e secundário dos neonatos já contêm células que se desenvolvem independentemente da estimulação antigénica e existem por volta de 30% de linfócitos B em circulação em comparação com os adultos. Normalmente uns dias depois do nascimento já existem imunoglobulinas em circulação produzidas por linfócitos B. Assim como durante o desenvolvimento fetal, os vitelos respondem a antígenos específicos em fases diferentes da vida, sendo que o número total de antígenos com uma resposta positiva aumenta ao longo do tempo (Barrington & Parish, 2001).

1.3.2. Imunidade inata

Os mecanismos da imunidade inata devem estar disponíveis rápida e continuamente para uma ação instantânea quando for necessário. São mecanismos não específicos, mas capazes de lidar com um largo espectro de agentes patogénicos que influenciar negativamente a homeostasia do animal. A imunidade inata é relativamente fraca e de curta duração (Day & Schultz, 2014).

Como referido anteriormente, a resposta imune inata é constituída por barreiras físicas e químicas e mecanismos humorais e celulares (Romo et al., 2016). As barreiras físicas são as superfícies externas como a pele e as superfícies internas, como as mucosas do trato gastrointestinal, reprodutivo, respiratório, urogenital, mucosa ocular e a glândula mamária (Ahmed & Schuring, 2013a; Day & Schultz, 2014). Os epitélios que cobrem estas barreiras apresentam algumas modificações (Day & Schultz, 2014). A pele é a maior barreira protetora de todos os vertebrados e consiste em camadas de epitélio estratificado com junções apertadas, prevenindo a perda de água e a infiltração de agentes patogénicos, em conjunto com outras funções de secreção e excreção (Romo et al., 2016). Este órgão mantém um pH reduzido através das secreções das glândulas sebáceas, não permite a colonização de agentes patogénicos devido à secreção de enzimas, a descamação periódica elimina os microrganismos invasores e contém bactérias comensais que evitam a aderência de invasores. Além disso, a pele é provida de células de *Langerhans* e linfócitos T γ - δ (Ahmed & Schuring, 2013a).

As mucosas são também uma barreira epitelial muito importante que protegem as cavidades corporais de agentes patogénicos invasores. Em geral, os mecanismos de defesa das mucosas incluem um reduzido pH, enzimas hidrolíticas, uma camada interna de muco e a secreção de moléculas bioativas: lisozimas (proteínas bacteriolíticas), péptidos antimicrobianos (AMPs - moléculas antibacterianas, antifúngicas e antiparasitárias, que destabilizam e perturbam a membrana microbiana, formam poros, agregam proteínas, inibem os alvos intracelulares, interferem na transcrição de ADN e bloqueiam a síntese e a dobragem de proteínas) e citocinas pro-inflamatórias (Romo et al., 2016).

Para além disso existem outros tecidos imuno-relacionados que contém níveis elevados de linfócitos T intraepiteliais infiltrados que destroem os microrganismos patogénicos e preservam a integridade epitelial. Há ainda a presença da flora microbiana, que tal como na pele, inibe a colonização de microrganismos patogénicos, competindo com eles por locais de aderência e produzindo metabolitos antimicrobianos (Romo et al., 2016).

Em particular, o trato respiratório é revestido por células epiteliais colunares ciliadas que fazem parte do sistema mucociliar, tendo como função transportar muco e detritos dos brônquios até à orofaringe onde podem ser engolidos (Day & Schultz, 2014). A turbulência criada no ar inalado pelas estruturas anatómicas do sistema respiratório inferior empurra os microrganismos presentes contra parede que contém muco pegajoso e lisozimas bactericidas (Ahmed & Schuring, 2013a).

O trato gastrointestinal contém células de *goblet* responsáveis pela produção de muco e substâncias antimicrobianas, enquanto que os movimentos peristálticos promovem o movimento do conteúdo intestinal na mesma direção dificultando a colonização de microrganismos patogénicos (Day & Schultz, 2014). A microflora do intestino delgado compete com os agentes patogénicos e secreta ácido butírico e ácido láctico que mantêm o pH reduzido e funcionam como bacteriostáticos para outros microrganismos (Ahmed & Schuring, 2013a).

O epitélio vaginal é rico em glicogénio e promove o crescimento de lactobacilos que secreta ácido láctico (Ahmed & Schuring, 2013a).

Quando um antigénio sobrevive aos mecanismos acima descritos a resposta celular entra em ação (Ahmed & Schuring, 2013a). A resposta celular inclui as células fagocitárias como os neutrófilos e os macrófagos, as células dendríticas, os mastócitos, as células assassinas e os linfócitos T intraepiteliais. Esta resposta em conjunto com moléculas também constituintes do sistema imunitário definem a inflamação que tem como objetivo neutralizar a causa, prevenir a propagação sistémica, além de promover a reparação tecidular (Day & Schultz, 2014).

A inflamação é composta por duas fases, a inflamação aguda e a crónica. A aguda inicia-se minutos após a deteção de uma ameaça à homeostase, e é caracterizada pelos cinco sinais cardinais: dor, edema, calor, rubor e perda de função. A inflamação crónica inicia-se entre 24 a 48 horas depois, e é caracterizada pela presença de sinais sistémicos: pirexia, letargia e anorexia (Day & Schultz, 2014).

As moléculas originadas pela destruição tecidual e as moléculas de origem microbiana são reconhecidas por recetores da superfície das células sentinelas presentes no tecido (macrófagos, células dendríticas e mastócitos) e das células epiteliais. Este reconhecimento ativa as células sentinelas que leva à libertação de mediadores solúveis que incluem citocinas e quimoquinas e moléculas vasoativas (Day & Schultz, 2014).

As citocinas são proteínas solúveis secretadas por células imunitárias que medeiam a comunicação entre células, função essencial para a resposta imune. Estas estão subdivididas em diferentes classes de acordo com a região de codificação no genoma, recetores alvo, função biológica e vias de sinalização associadas (Romo et al., 2016). As classes incluem os interferões, interleucinas, fatores de necrose tumoral e fatores transformadores de crescimento (Day & Schultz, 2014; Romo et al., 2016; Scully et al., 2017).

A libertação de citocinas atrai neutrófilos ao local da infeção, que são as primeiras células a combater antígenos invasores. Apresentam um período de vida curto, e respondem rapidamente estando prontos a fagocitar e destruir o agente invasor, não tendo a capacidade de apresentar o antígeno aos linfócitos. No entanto, o contacto entre os neutrófilos e o antígeno é facilitado quando os antígenos estão ligados ou circundados por anticorpos ou por proteínas do complemento (Ahmed & Schuring, 2013a).

O sistema do complemento é composto por proteínas plasmáticas que reagem aos agentes patogénicos através opsonização, uma cascata molecular que leva ao aumento da resposta inflamatória e à formação de poros na superfície celular resultando na lise celular (Romo et al., 2016).

Na ausência de agentes patogénicos existem anticorpos circulantes maioritariamente imunoglobulinas M (IgM) sintetizados por linfócitos B. São essências na imunidade humoral, reagindo a antígenos desconhecidos e substâncias derivadas de micróbios. Podem ativar a cascata do complemento pela via clássica. Neutralizam agentes patogénicos e parasitas helmintes e conferem resistência ao vírus Influenza (Romo et al., 2016).

Por fim, os macrófagos são atraídos aquando da libertação de elastases e colagenases de neutrófilos apoptóticos, por material bacteriano e por substâncias libertadas pela destruição do tecido. Os macrófagos são células de vida longa que apesar de não serem de rápida resposta têm a capacidade de fagocitar antígenos repetidamente. Além disso, alguns macrófagos conseguem apresentar os antígenos aos linfócitos (Ahmed & Schuring, 2013a).

1.3.3. Imunidade adquirida

A imunidade adquirida é caracterizada por ser um mecanismo de longa duração, específico e que desenvolve memória para uma segunda exposição do mesmo agente patogénico (Ahmed & Schuring, 2013b; Scully et al., 2017), o que torna a resposta a uma segunda exposição ao antígeno mais rápida e eficiente (Carroll & Forsberg, 2007). O sistema imune adquirido tem ainda

uma função reguladora que, após a eliminação do agente patogénico, termina a resposta imunitária para não causar dano no tecido normal (Day & Schultz, 2014).

A resposta imune adquirida envolve uma imunidade humoral mediada por linfócitos B e uma imunidade celular mediada por linfócitos T (Scully et al., 2017). As células apresentadoras de antígenos (APC's), que integram o sistema imunitário inato, ativam os linfócitos B e T, os principais constituintes da imunidade adquirida (Ahmed & Schuring, 2013b; Day & Schultz, 2014).

Os linfócitos apenas se tornam ativos quando se ligam a um antígeno específico. Encontram-se em constante circulação entre a linfa e o sangue até se ligarem ao antígeno num órgão linfoide secundário, onde proliferam e se diferenciam em células efetoras. Os órgãos linfáticos secundários, ou órgãos linfáticos periféricos, são os linfonodos, o baço e tecido linfoide associado às mucosas (MALT) (Scully et al., 2017).

Quando se tornam células efetoras os linfócitos estão ativamente envolvidos na eliminação do agente patogénico ou tornam-se células de memória (células sobreviventes de infeções anteriores), que se mantêm em circulação por um longo período. As células B e T só se distinguem morfológicamente após a sua ativação (Scully et al., 2017).

Os linfócitos B secretam imunoglobulinas que circulam e ligam-se ao antígeno (formando o complexo imune) marcando-os para células fagocitárias e ativam o complemento, e também atuam como APC's. As células B lidam com agentes extracelulares envolvendo-se maioritariamente com bactérias (Ahmed & Schuring, 2013b; Day & Schultz, 2014; Scully et al., 2017).

Os linfócitos T estão relacionados com agentes patogénicos intracelulares como vírus, fungos e algumas bactérias (Ahmed & Schuring, 2013b; Day & Schultz, 2014; Scully et al., 2017). Estas células desenvolvem-se no timo e dividem-se em linfócitos T-helper (T_H) e T-citotóxicos (T_C). Os linfócitos T_H produzem citocinas que ajudam as outras células T e B a crescer e dividir-se, e elas próprias crescem e dividem-se para produzir mais células e lutar contra futuras infeções. Os linfócitos T_C expressam anticorpos na sua superfície e conseguem mediar a destruição de células infetadas (Carroll & Forsberg, 2007).

Os anticorpos, referidos como imunoglobulinas, apresentam 5 isotipos, dos quais os mais comuns são as IgM e as Imunoglobulinas G (IgG). As primeiras imunoglobulinas produzidas pelo sistema imunitário em resposta a uma infeção são as IgM, apesar de serem as primeiras a chegar ao local da infeção apresentam uma baixa afinidade com o antígeno. As IgG são mais específicas, mas requerem mais tempo para se desenvolverem (Carroll & Forsberg, 2007).

1.4. O colostro

O colostro é o leite formado antes do parto, a sua formação é um processo secretório que ocorre sem necessidade de remoção do leite da glândula mamária (Davidson & Stabenfeldt, 2013).

Os bovinos nascem agamaglobulinêmicos devido à estrutura sindesmocorial da placenta que impede a passagem de imunoglobulinas da circulação materna para a circulação fetal, por isso a aquisição destas proteínas protetoras só é possível após o nascimento através da ingestão do colostro (Godden et al., 2019).

A ingestão do colostro permite então a transferência de imunoglobulinas maternas, assim como outros componentes, conferindo uma proteção imunológica temporária ao vitelo até que o seu sistema imunitário se torne totalmente funcional (Day & Schultz, 2014; Hailu et al., 2019).

1.4.1. Produção e constituição do colostro

A colostrogênese é um processo discreto e finito. Inicia-se algumas semanas antes do parto, sob a influência de hormonas lactogénicas incluindo a prolactina, estrogénio e progesterona e termina abruptamente imediatamente antes do parto. O controlo da colostrogênese é influenciado por mecanismos regulatórios que provavelmente atuam em conjunto com mecanismos sistémicos hormonais (Barrington & Parish, 2001).

O colostro bovino consiste numa mistura de secreções lácteas e de componentes do plasma sanguíneo, maioritariamente Ig e outras proteínas plasmáticas, que se acumulam na glândula mamária durante o período seco. Os principais componentes do colostro são Ig, leucócitos, fatores de crescimento, hormonas, fatores não específicos antimicrobianos e nutrientes. A concentração destes componentes é elevada nas primeiras secreções após o parto, e vai-se reduzindo ao longo das seis ordenhas seguintes (chamado leite de transição) até atingir as baixas concentrações do leite que já pode ser vendido (Foley & Otterby, 1978).

1.4.1.1. *Imunoglobulinas*

A composição do colostro contém aproximadamente entre 85% e 90% IgG, 5% IgA e 7% IgM, sendo que a IgG₁ representa 80% a 90% do total de IgG (Larson et al., 1980). As concentrações médias no colostro de IgG, IgA e IgM foram reportadas num estudo como 75 g/L, 4.4 g/L, e 4.9 g/L respetivamente, embora os níveis sejam altamente variáveis entre animais (Newby et al., 1982).

As imunoglobulinas presentes no colostro podem ser provenientes da circulação materna (IgG) através de um mecanismo de transporte específico, ou podem ser produzidas localmente na glândula mamária (IgA e a IgM) por plasmócitos. As células do epitélio alveolar da glândula mamária contém recetores específicos que captam a IgG, maioritariamente a IgG₁, do fluído extracelular e a transportam, através da célula, para o lúmen da glândula mamária (Larson et al., 1980).

Evidências sugerem que a iniciação da atividade dos recetores IgG₁ está relacionada com a primeira fase da lactogénese sob a influência de estrogénio e progesterona, enquanto que o fim da sua atividade está relacionado com a segunda fase que está sob a influência da prolactina no início da lactogénese (Barrington & Parish, 2001).

As produções de IgA e IgM são maioritariamente provenientes de plasmócitos localizados na glândula mamária (Larson et al., 1980). Apesar de ser um processo que ainda não é totalmente compreendido a transferência de imunoglobulinas E (IgE) também ocorre e pode ser importante na proteção contra parasitas intestinais (Thatcher & Gershwin, 1989).

1.4.1.2. *Leucócitos*

O colostro fresco contém leucócitos com origem materna (Godden et al., 2019). Estas células incluem linfócitos, neutrófilos, macrófagos e células epiteliais. Os linfócitos representam mais de 30% das células presentes e na maioria das espécies predominam os macrófagos e os neutrófilos (Barrington & Parish, 2001). Os leucócitos modificam as respostas imunológicas dos vitelos, e estes efeitos podem afetar a saúde e a imunidade do animal anos mais tarde (Godden et al., 2019).

Os linfócitos T encontram-se em maior quantidade que os linfócitos B em todos os estados de lactação. De acordo com o fenótipo dos linfócitos T presentes no colostro, estes podem transferir funções imunológicas ao vitelo e produzir citoquinas (Thatcher & Gershwin, 1989). Os linfócitos B têm como principal função a síntese de IgA, (Barrington & Parish, 2001), como referido anteriormente.

A função principal dos macrófagos é a produção de citoquinas e a apresentação de antigénios (Barrington & Parish, 2001).

1.4.1.3. *Nutrientes e fatores não nutritivos*

O colostro contém grandes quantidades de nutrientes e de fatores não nutritivos biologicamente ativos que estimulam o desenvolvimento do trato gastrointestinal do vitelo (Hammon et al., 2013).

O conteúdo sólido do colostro é elevado (cerca de 23,9%) devido à presença de proteínas como a caseína e as imunoglobulinas e de gordura. O conteúdo energético do colostro é proveniente da gordura e da lactose que são importantes para a termogénese e para a regulação da temperatura corporal do neonato (Godden et al., 2019).

Algumas vitaminas e minerais são também encontrados em grandes quantidades no colostro dos bovinos tais como: vitamina A, vitamina E, caroteno, riboflavina, vitamina B12, ácido fólico, colina, magnésio, zinco e selénio. Estão também presentes como fatores de crescimento, hormonas, citoquinas e fatores antimicrobianos não específicos e ainda o inibidor da tripsina que protege as imunoglobulinas e outras proteínas importantes da proteólise no intestino do vitelo (Godden et al., 2019).

1.4.2. Fatores que influenciam a qualidade do colostro

A concentração de Ig é utilizada para avaliar a qualidade do colostro, sendo que um colostro com mais de 50g/L de Ig é considerado de alta qualidade (Godden et al., 2019). A qualidade e a quantidade de colostro produzida é afetada por diferentes fatores.

1.4.2.1. Raça

A raça pode ter alguns efeitos na qualidade do colostro, segundo alguns estudos (Muller & Ellinger, 1981 e Guy et al., 1994 citados por Godden et al., 2019). Num estudo de Muller e Ellinger (1981) a raça Holstein produziu colostro com menor concentração de imunoglobulinas em comparação com as raças Guernsey, Brown Swiss, Ayrshire e Jersey. Estas diferenças podem ser causadas à genética ou também a efeitos de diluição (Godden et al., 2019). Por exemplo a Jerseys tende a ter valores elevados de imunoglobulinas devido a um volume menor (Dairy Australia, 2017).

1.4.2.2. Número de lactações

A maioria dos estudos mostram que o colostro de maior qualidade é tendencialmente produzido por vacas mais velhas, porque estiveram expostas a um maior número de antígenos (Morin et al., 2001; Shivley et al., 2018). Apesar disso, o colostro de primíparas não deve ser descartado porque pode ser de boa qualidade. Num estudo feito por Shivley et al. (2018) o colostro de primeira e segunda lactação tiveram qualidade semelhante (73,2 g/L IgG e 71,7 g/L IgG) respetivamente, e o de terceira lactação foi o de maior qualidade (83,3 g/L de IgG).

1.4.2.3. Stresse térmico

A relação entre a estação do ano e a qualidade e volume do colostro ainda não é clara, porque apesar de alguns estudos demonstrarem que quando os animais são expostos a altas temperaturas ambientais a qualidade do colostro é mais baixa, incluindo médias mais baixas de IgG e IgA (Morin et al., 2001; Nardone et al., 1997), outros estudos demonstram o contrário (Shivley et al., 2018).

Foi sugerido que qualquer efeito negativo associado ao stresse térmico está relacionado com a diminuição da ingestão de matéria seca ou com o reduzido fluxo sanguíneo mamário, prejudicando a transferência de IgG e de nutrientes para o úbere. (Nardone et al., 1997)

A estação do ano também pode ter um impacto no volume de colostro, uma vez que um ITH baixo e um fotoperíodo mais curto um mês antes do parto e no parto, estão altamente relacionados com um volume reduzido de colostro devido ao seu impacto negativo na melatonina e prolactina (hormonas que estão relacionadas com a colostrogénese) (Godden et al., 2019).

1.4.2.4. Vacinação pré-parto

A vacinação não aumenta o total de IgG no colostro. Porém as vacas e novilhas prenhas vacinadas entre as 3 e as 6 semanas antes do parto apresentam um aumento da concentração de anticorpos específicos no colostro e também de anticorpos passivos titulados em vitelos de vacas vacinadas, específicos para alguns agentes como a *Pasteurella haemolytica*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, rotavírus e coronavírus (McNulty and Logan, 1987; Hodgins and Shewen, 1996 e Smith et al., 2014 citados por Godden et al., 2019).

Assim, para maximizar a qualidade do colostro e aumentar o grau de proteção do vitelo, a vacinação no tempo certo é essencial, pois aumenta a quantidade de anticorpos específicos para as doenças mais comuns da exploração e dos primeiros meses de vida dos vitelos na circulação da vaca preta durante o período seco, aumentando, conseqüentemente, a quantidade destes anticorpos no colostro (Moran, 2002).

1.4.2.5. Duração do período seco

Um período seco muito curto leva à produção de um volume menor de colostro com menor concentração de IgG (Godden et al., 2019). Um período seco com uma duração menor de cinco semanas determina com grande probabilidade a diminuição da qualidade do colostro produzido (Moran, 2002; Dairy Australia, 2017). De igual forma, o colostro produzido por vacas com um parto precoce contém um nível reduzido de imunoglobulinas (Dairy Australia, 2017).

1.4.2.6. Volume de colostro produzido

Segundo Moran, 2002, o volume de colostro pode ser um indicador de qualidade de colostro, pois grandes volumes de colostro podem indicar uma pior qualidade. No entanto, estudos mais recentes, reportam que não existe uma forte relação entre o volume e a concentração de imunoglobulinas no colostro (Godden et al., 2019).

1.4.2.7. Tempo entre o parto e a recolha do colostro

Quando há atraso na recolha do colostro, a quantidade de imunoglobulinas presentes no colostro é menor (Moran, 2002; Dairy Australia, 2017).

A partir do momento do parto o colostro deixa de ser produzido, e por essa razão a sua qualidade protetora reduz-se mesmo que a vaca não seja ordenhada. Quando o colostro é recolhido e armazenado (no frigorífico ou no congelador) logo após o nascimento as suas capacidades protetoras mantêm-se (Dairy Australia, 2017).

1.4.3. Transferência de imunidade passiva (TIP)

Um dos principais fatores de risco para elevada morbidade e mortalidade em vitelos é a falha parcial ou total da TIP (McGuirk & Collins, 2004). Os vitelos que recebem uma quantidade de imunoglobulinas suficientes apresentam um desempenho melhor do que aqueles com nível insuficiente (Robison et al., 1988).

A falha da TIP é uma condição que predispõe o vitelo ao desenvolvimento de doença e está relacionada com uma absorção inadequada da quantidade de imunoglobulinas (Beam et al., 2009; Hailu et al., 2019). Pode estar relacionada tanto com as características da mãe, como a produção deficiente ou a qualidade reduzida de colostro, como com as características do vitelo como a ingestão ou absorção intestinal insuficiente (Guy et al., 1994).

A absorção de imunoglobulinas através do intestino ocorre num intervalo de tempo limitado entre as 24 horas e as 36 horas, sendo crucial a ingestão do colostro neste período (Davidson & Stabenfeldt, 2013). Este processo diminui a sua eficácia linearmente desde o momento do

nascimento até aproximadamente às 24 horas seguintes (Weaver et al., 2000), sendo que seis horas após o parto a eficácia é de apenas 50%, 33% depois de oito horas e 24 horas depois já não se verifica absorção (Godden et al., 2019). A cada meia hora de atraso na ingestão de colostro a concentração de Ig no soro do vitelo reduz 2 g/L (Ježek et al., 2019).

Para garantir uma adequada transferência de imunidade passiva, uma orientação útil é a administração de entre três a quatro litros de colostro nas primeiras seis horas de vida (Godden et al., 2019; Hailu et al., 2019).

O processo de absorção de imunoglobulinas parece ser saturável, ou seja, a sua eficiência reduz-se com o aumento da concentração de imunoglobulinas no colostro, finito e diminui ao longo do tempo independentemente da presença de macromoléculas (Stott et al., 1979a; Stott et al., 1979b; Besser and Gay, 1985).

O recém-nascido tem a capacidade de transferir macromoléculas, como as imunoglobulinas, de forma não seletiva através dos enterócitos por pinocitose (Broughton & Lecce, 1970), desta forma as Ig são transportadas através do enterócito, são libertadas na circulação linfática por exocitose e entram na circulação sanguínea através do ducto torácico (Staley et al., 1972).

Devido à ausência de recetores específicos para as imunoglobulinas no intestino do recém-nascido, não parece haver uma diferenciação na maioria das macromoléculas. Tendo em conta que todas as macromoléculas competem pelo mesmo processo de absorção, a quantidade de imunoglobulinas absorvidas pelo vitelo é inversamente proporcional à concentração de outras macromoléculas presentes no lúmen intestinal (Barrington & Parish, 2001).

O ambiente envolvente pode afetar a absorção de imunoglobulinas; por exemplo, o frio extremo reduz a sua absorção. Quando a temperatura ambiente está fora do intervalo de termoneutralidade do vitelo tem efeitos diretos na absorção intestinal e no transporte (Quigley, 2002).

A duração da imunidade passiva proveniente de imunoglobulinas da mãe é muito variável e depende maioritariamente do total de imunoglobulinas consumidas e absorvidas nas primeiras 24 horas de vida (Godden et al., 2019). No entanto, a ingestão de colostro durante dois ou três dias após o nascimento é importante, porque as imunoglobulinas presentes no colostro irão revestir o trato digestivo e dificultar a adesão de bactérias à parede intestinal reduzindo a incidência de diarreias neonatais (Quigley, 2002). A destruição de anticorpos do colostro é influenciada por diversos fatores, incluindo as infeções virais ativas ou a vacinação (Godden et al., 2019).

1.4.4. Maneio do colostro

O maneio do colostro é o fator mais importante para a saúde e sobrevivência dos vitelos. É de extrema importância o fornecimento de volume suficiente de colostro limpo e de elevada qualidade nas primeiras horas de vida. Para além disso, deve ser feita uma monitorização contínua da qualidade do colostro e da TIP para ajudar na correção de eventuais problemas relacionados com a qualidade do colostro (Godden et al., 2019).

O sucesso da transferência de imunidade passiva é baseado em quatro fatores de manejo como a administração de colostro de alta qualidade (>50mg/mL of IgG), do volume adequado (três a quatro litros nas primeiras horas de vida), a rapidez de administração e a reduzida contaminação de bactérias (Beam et al., 2009; Dairy Australia, 2017; Godden et al., 2019).

Na primeira toma de colostro o vitelo pode tomar até 10% a 12% de peso vivo, ou seja, o equivalente a três ou quatro litros de colostro num vitelo de raça Frísia (Godden et al., 2019).

Existem diferentes métodos para fornecer o colostro: o método natural mamando da mãe, sonda esofágica e biberão. O método natural, em que a toma é feita diretamente da mãe, é o método menos eficiente pois pode haver um atraso na toma do colostro para além de ser difícil de controlar o volume ingerido levando a maiores falhas de transferência de imunidade passiva (Edwards & Broom, 1979).

Com a sonda esofágica o reflexo do sulco esofágico não é ativado e pode haver um desvio de parte do colostro para o retículo-rúmen. No entanto esta não é uma limitação significativa porque a passagem do colostro até ao intestino dá-se até três horas, permitindo a sua absorção (Lateur-Rowet & Breukink, 1983).

Tanto com o biberão como com a sonda esofágica os níveis de transferência de imunidade passiva são equivalentes, fornecendo volumes de colostro suficientes (Besser et al., 1991; Desjardins-Morrisette et al., 2018).

Como referido anteriormente, uma elevada quantidade de bactérias presentes no colostro pode interferir na absorção do mesmo pelo recém-nascido, para além de poder causar doenças. Para minimizar este risco é necessário evitar a contaminação direta durante a sua extração, armazenamento e manejo assim como prevenir a multiplicação de bactérias já presentes (Dairy Australia, 2017).

O colostro fornecido deve conter menos de 100.000 cfu/ml, o que corresponde à contagem total de placas e menos de 10.000 cfu/ml da contagem total de coliformes (indicador de contaminação fecal) (Dairy Australia, 2017).

A contaminação pode ser reduzida com uma higienização adequada do úbere antes da colheita do colostro. E este deve ser colocado num recipiente devidamente limpo e ser transferido rapidamente para o respetivo equipamento de armazenamento ou de administração (Godden et al., 2019).

A pasteurização a altas temperaturas pode danificar as imunoglobulinas, mas usando temperaturas mais baixas durante um período de tempo mais longo (60°C durante 60 minutos) os níveis de IgG mantêm-se, eliminando agentes patogénicos importantes. Os vitelos alimentados com colostro pasteurizado melhoraram a capacidade de absorção, provavelmente devido à diminuição da interferência de bactérias com as imunoglobulinas (Godden et al., 2019).

Quando o colostro não é administrado imediatamente deve ser armazenado no período de uma hora após a colheita (Godden et al., 2019). No limite, colostro pode ser refrigerado por 48 horas

a 4°C. Para ser administrado deve ser colocado em banho maria até atingir aproximadamente uma temperatura de 35°C a 38°C (Dairy Australia, 2017). Também pode ser congelado até um ano, o descongelamento o colostro não deve atingir temperaturas superiores a 60°C para evitar a desnaturação de imunoglobulinas (Godden et al., 2019).

1.4.5. *Métodos de avaliação da qualidade do colostro*

A avaliação da qualidade do colostro pode ser feita em laboratório medindo diretamente a quantidade de imunoglobulinas, ou na exploração com métodos indiretos mais rápidos e práticos como o colostrómetro ou o refratômetro de grau BRIX.

O colostrómetro relaciona a gravidade específica do colostro com a concentração de imunoglobulinas no colostro, pois existe uma correlação positiva. Esta relação é variável pois há outros componentes que afetam a gravidade específica, como por exemplo a temperatura. No entanto, o colostrómetro pode dar-nos uma estimativa qualitativa da qualidade do colostro (Quigley, 2002).

O refratômetro de grau BRIX, que pode ser ótico ou digital, determina a percentagem de sólidos na solução. A percentagem do BRIX corresponde à refração de uma solução de açúcar a 1% (Buczinski et al., 2018). Uma percentagem de 22% é o limite para detetar um colostro de boa qualidade, que equivale a uma concentração de imunoglobulinas de 50mg/ml (Dairy Australia, 2017).

1.4.6. *Métodos de avaliação da absorção do colostro*

Para avaliar a TIP é feita uma medição da concentração de IgG no plasma sanguíneo do vitelo aproximadamente 24 a 48 horas após o nascimento (Quigley, 2002; Hailu et al., 2019). A medição da TIP pode ser feita por métodos diretos, como a imunodifusão radial ou a turbidimétrica; ou por métodos indiretos, como um refratômetro de soro ou o refratômetro de grau BRIX (Buczinski et al., 2018). O nível crítico da falha de transferência de imunidade passiva é normalmente considerado 10 g/L (1.000 mg/dl) de IgG séricas presentes no sangue (Quigley, 2002).

Neste estudo o método utilizado foi o refratômetro de soro ótico, que será desenvolvido neste capítulo.

Este método mede a quantidade de proteínas totais presentes no soro do sangue do vitelo. Partindo do princípio que, a proteína total está diretamente relacionada com a concentração de imunoglobulinas, pois as imunoglobulinas absorvidas através do colostro constituem a maior parte da proteína encontrada no sangue de recém-nascidos (Thrall et al., 2004). Uma amostra deve ser colocada no leitor do refratômetro ótico e deve ser observada à luz para que um feixe de luz passe pela amostra. As proteínas presentes no soro refratam a luz, sendo que a quantidade de luz refratada aumenta com o aumento do teor de proteína (Quigley, 2001).

Este é um método vantajoso por ser barato, simples e rápido, podendo ser utilizado na exploração (Godden et al., 2019). No entanto, alguns fatores como a qualidade do equipamento,

a manutenção e a calibração, assim como a temperatura da amostra e a idade do vitelo podem influenciar os resultados (Quigley, 2001).

Segundo Souza et al., 2021, atualmente os valores de medição de TIP através do refratômetro ótico são considerados excelentes com valores de proteína sérica superior a 6,2g/dl, bons entre 5,8 e 6,1 g/dl, suficiente entre 5,1 e 5,7 g/dl, e falha de TIP com valores inferiores a 5,1 g/dl.

2. Objetivos

O primeiro objetivo deste trabalho pretende avaliar a presença de stresse térmico em vacas de leite através do ITH, e observar a sua influência na qualidade do colostro medida através de um refratómetro BRIX.

Um segundo objetivo pretende compreender, em primeiro lugar, se a qualidade do colostro influencia a TIP (medida através de um refratómetro ótico), e em segundo lugar se a TIP é influenciada por diferentes ITH.

3. Materiais e Métodos

3.1. A exploração

O estudo foi realizado numa vacaria de leite localizada numa exploração do Alto Alentejo, no distrito de Évora, com uma extensão de 1.100 hectares e um total de, aproximadamente, 2.000 animais, em regime intensivo. A empresa possui também uma vacada em regime extensivo, produção e manejo de pastagens naturais. Para além disso a exploração produz silagem de milho e forragem de luzerna, produzidas em grande quantidade, que fazem parte da alimentação dos animais.

Os pilares da empresa gestora da exploração, baseiam-se no bem-estar animal, na sustentabilidade ambiental e na utilização responsável de antibióticos e hormonas. Para tal, tem ao seu dispor alta tecnologia e infra-estruturas adequadas que o permitem. No âmbito da sustentabilidade ambiental um dos processos utilizados é o tratamento dos excrementos dos animais. É feita a separação da parte líquida e utilizada como fertilizante junto com a água das regas, e da parte sólida que é seca e misturada com cal e utilizada nas camas dos bovinos leiteiros.

Relativamente ao bem-estar animal, a exploração tem uma certificação *Welfare Quality*, com o selo da Associação Espanhola de Normalização e Certificação (AENOR). O espaço encontra-se ambientalmente enriquecido: incluindo sistema de som em todos os parques, com o objetivo de abafar os sons da vacaria e acalmar os animais e os trabalhadores, escovas elétricas e um sistema de controlo da temperatura. Para acomodação dos animais é usado um sistema de cubículos com cama de estrume seco, todos os animais em produção têm uma cama individual, sempre limpa, para garantir o seu conforto. Para a alimentação, é utilizado o sistema *Total mixed ration* (TMR). Esta é húmida e baseada em silagens, forragens e matérias primas como soja e milho, que favorecem a saúde ruminal dos bovinos, contribuindo para o seu conforto e bem-estar. A condução dos animais de e para a ordenha é feita segundo técnicas que reduzem o stresse. Todos os colaboradores têm formação específica em Maneio e Bem-Estar Animal, fornecido pela *Zoetis*.

O controlo dos animais, relativamente à produção e à reprodução, é feito com o auxílio dos programas: SCR (Service-sire Conception Rate), DairyComp305 e com o auxílio de podómetros.

O SCR funciona com radiofrequência, em que cada animal tem um colar, com um pequeno transmissor, que faz a medição da atividade e da ruminação e envia essa informação, em tempo real, para o software. Estes parâmetros permitem avaliar a saúde, o stresse e ainda a fase reprodutiva da vaca. Por exemplo, quando, tanto a atividade como a ruminação, diminuem pode ser indicativo de doença ou de stresse. Assim como, quando a atividade aumenta e a ruminação diminui, o software assume que o animal está em cio.

O DaryComp305 é o software utilizado para registos dos acontecimentos de vida de cada animal, como a data nascimento, a data do parto, doenças, movimentações e administração de medicamentos. Está associado ao livro de medicamentos da exploração o que permite fazer o inventário.

O podómetro funciona associado à ordenha, é colocado num dos membros anteriores, é lido durante a ordenha e envia a informação para um software. Inclui parâmetros como os litros de leite por ordenha, a condutividade do leite e a atividade do animal, o que facilita na deteção de cio ou de eventual doença.

3.1.1. Organização da vacaria

A vacaria está organizada por parques da seguinte forma (Figura 1):

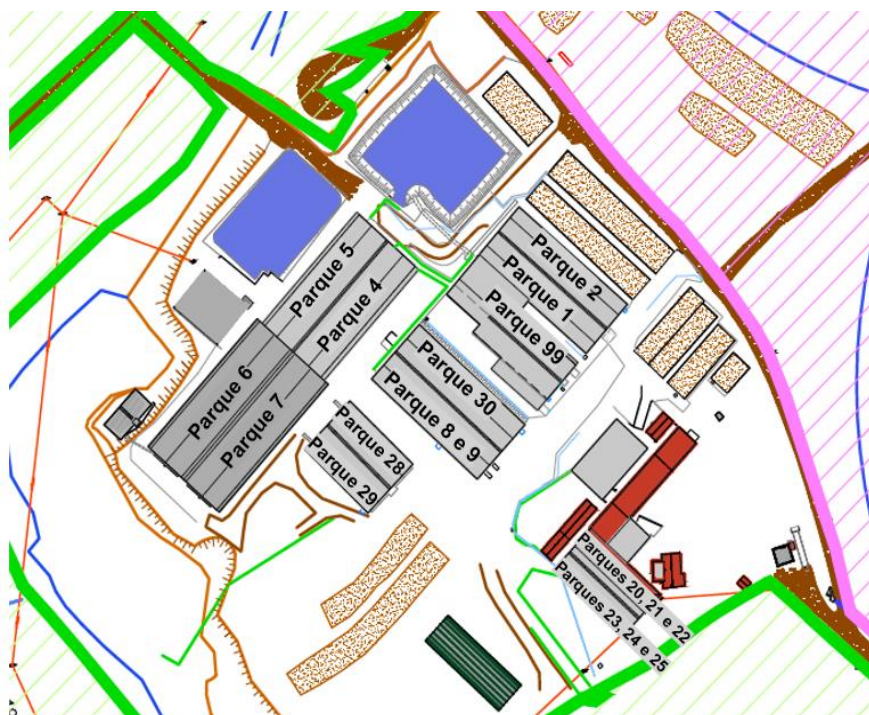


Figura 1. Organização da Vacaria

- Parque 1 e 2: primíparas em lactação;
- Parque 3: pré-secagem. Vacas prontas para secar, passam de três a uma ordenha diária (segunda-feira) até ao dia da secagem seletiva e ida para o campo (quarta-feira);
- Parque 4 a 7: vacas em lactação;
- Parque 8: vacas em lactação para refugio;

- Parque 9: pós-parto. Permanecem no mínimo três ordenhas após o parto. Se continuarem saudáveis passam para o parque;
- Parque 19: veteiros. Vitelos recém-nascido até ao primeiro mês de idade das fêmeas ou aos quinze dias nos machos;
- Parque 20, 21 e 22: desmame;
- Parque 23, 24 e 25: vitelas (Grelhas);
- Parque 28 e 29: novilhas (com idade e peso para primeira inseminação);
- Parque 30: pré-parto. Vacas secas 1 mês;
- Parque 99: enfermaria, maioritariamente mamites
- Campo: diferentes parques, com alguma rotatividade. Para novilhas prenhas, vitelas, vacas secas e animais em quarentena.

3.1.2. O ciclo de produção

Podemos considerar o início do ciclo produtivo, o momento do parto. Os animais no pós-parto são monitorizados e é feita uma avaliação ao 4º, 8º e 20º dias pós-parto. Esta avaliação inclui a medição da temperatura, a auscultação, a medição dos corpos cetónicos (*B-Hidroxibutirato*) e a glicose sanguínea, a palpação retal para avaliar a involução uterina, o corrimento vaginal e o estado geral do animal.

O período voluntário de espera é de 60 dias, depois deste período os animais são inseminados. Caso não exista retorno ao cio, aos 45 dias após a inseminação é feito o diagnóstico de gestação.

A secagem das vacas é realizada aos 220 dias de gestação de forma seletiva (utilização de antibiótico intramamário apenas em alguns tetos, e quando necessário). Os critérios utilizados são: a contagem de células somáticas (CCS) baseado nos três contrastes anteriores, a presença de mamite clínica na última lactação e a realização do Teste Californiano de Mastites (TCM) na altura da secagem. O selante é aplicado a todos os tetos de todas as vacas. O antibiótico intramamário só é utilizado quando o animal apresentou mamite clínica, a CCS foi superior a 200.000 ou o TCM deu positivo.

Aproximadamente 21 dias antes da data prevista de parto, os animais são colocados no parque do pré-parto, para se habituarem a uma nova dieta, e para que seja mais fácil vigiar os sinais de aproximação do parto.

3.1.3. A ordenha

A ordenha é realizada três vezes por dia. A primeira ocorre da uma às oito da manhã, a segunda ocorre das dez da manhã às quatro da tarde, e a terceira ocorre das cinco da tarde à meia-noite. A ordem da ordenha ocorre por parques. Os primeiros a serem ordenhados são os da primeira lactação, correspondendo ao parque um e dois, de seguida são os parques seis e sete, depois as altas produtoras dos parques quatro e cinco, seguidamente o parque oito, e por fim são ordenhadas as vacas paridas e doentes.

O leite das vacas paridas (parque nove) é retirado o primeiro e o segundo colostro para avaliação e armazenamento, enquanto o leite de transição e o leite de vacas doentes (com mamite ou com medicação excretada pelo leite, com intervalo de segurança para o leite) é ordenado para um tanque independente, para posterior pasteurização. Entre cada ordenha o equipamento é lavado e desinfetado de acordo com as normas.

3.1.4. O período seco

Aos 220 dias de gestação é realizada a secagem seletiva na última ordenha, como explicado anteriormente no ciclo de produção. Após a secagem seletiva, as vacas são levadas até ao campo, estando sujeitas às condições climáticas. A sua alimentação neste período baseia-se em pastagem, silagem e concentrado.

Aproximadamente 21 dias antes da data prevista de parto (DPP) as vacas são colocadas no parque 30 em que as condições climáticas estão controladas pelo sistema de controlo de temperatura existente no parque e alimentadas com uma dieta aniónica. Quando colocadas neste parque as caudas são aparadas para uma melhor higiene, são administradas cápsulas de Kexxtone™ para prevenir cetose clínica ou subclínica e reduzir a incidência de deslocamentos do abomaso, e colocação de colares SCR quando ainda não têm.

3.1.5. Maneio dos vitelos

Quando nascem, os vitelos são colocados em alojamentos individuais para evitar a contaminação entre vitelos. Os alojamentos são higienizados e desinfetados previamente, e forrados com palha para permitir um melhor conforto, tanto físico como térmico. Os alojamentos individuais estão relativamente perto para permitir que os vitelos se possam ver e tocar segundo o decreto de lei nº48/2001 (DGAV, 2018).

Os machos permanecem os primeiros quinze dias de vida, sendo comercializados posteriormente, as fêmeas ficam até passarem para os alimentadores automáticos e iniciarem o período de desmame com um mês de idade.

A alimentação é baseada em leite de substituição oferecido duas vezes por dia através de um biberão com três litros de volume por refeição pelos trabalhadores. A primeira refeição do dia ocorre às oito da manhã e a segunda ocorre às cinco da tarde. Desde do nascimento têm sempre água e ração *ad libitum*.

As primeiras três refeições dos vitelos são colostro, sendo a primeira toma oferecida nas primeiras horas de vida e as outras duas tomas são oferecidas aquando das horas da distribuição do leite de substituição. O colostro é oferecido através de uma sonda esofágica com quatro litros de volume e pode ser fresco ou congelado, consoante a disponibilidade. Antes da sua administração ou armazenamento, o colostro é sempre pasteurizado e a qualidade é sempre avaliada através do BRIX.

Após as tomas de colostro, iniciam a ingestão do leite de substituição. Durante a primeira semana de vida, os animais fazem imunomodulação, através do enriquecimento do leite com algas imunomoduladoras.

Ao completar um mês de idade as vitelas estão prontas para ser desmamadas. Para tal, são vacinadas e descornadas, transferidas e alojadas em grupo com animais da mesma idade em parques próprios para o início do desmame. Nesta altura os animais têm acesso a ração e água, é iniciado a ingestão de feno e são apresentados às máquinas de desmame disponíveis nestes parques. Cada animal tem um chip na orelha que permite a sua identificação na máquina de desmame, possibilitando o controlo da quantidade de leite ingerida pela vitela e fazer uma redução gradual da ingestão de leite ao longo do tempo.

No fim do desmame, com aproximadamente dois meses de idade, as vitelas são transferidas para um novo parque equipado com camas individuais e cornadis que mimentizam os futuros parques de forma a que haja uma adaptação subtil e redução o stresse causado pela transição.

3.2. O clima

Segundo a classificação de *Köppen-Geiger* da última revisão de Köppen em 1936, confirma que na maior parte de Portugal continental o clima é temperado do tipo C, com o subtipo Cs – clima mediterrânico com Verão seco (IPMA).

Como mostra a Figura 2, Portugal divide-se ainda em duas regiões: Csa (cor-de-laranja) e Csb (verde água) (IPMA).

A Csa é característica das regiões interiores do vale do Douro e das regiões a sul do sistema Montanhoso-Estrela que não inclui o litoral oeste do Alentejo e do Algarve. Nesta região o clima é temperado com Verão quente e seco (IPMA).

A região Csb apresenta um clima temperado com Verão seco e suave, em quase todas as regiões a Norte do sistema montanhoso Montejunto-Estrela e nas regiões do litoral oeste do Alentejo e Algarve (IPMA).

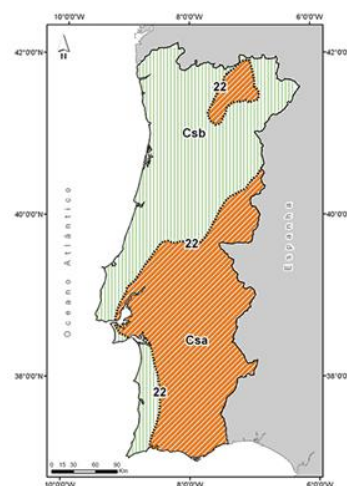


Figura 2. Caracterização do clima em Portugal Continental segundo a classificação de Köppen. https://www.ipma.pt/pt/educativa/temp_o.clima/index.jsp?page=clima.pt.xml

As temperaturas do Alentejo central, no período entre o ano 1991 e o ano 2000, variam em média, entre os 8,3°C no pico do Inverno (janeiro), e os 24,3°C no pico do Verão (agosto) como mostra a Figura 3. Sendo que no Inverno o intervalo foi entre 4,6°C e os 12,1°C e no Verão 16,6°C e os 31,6°C

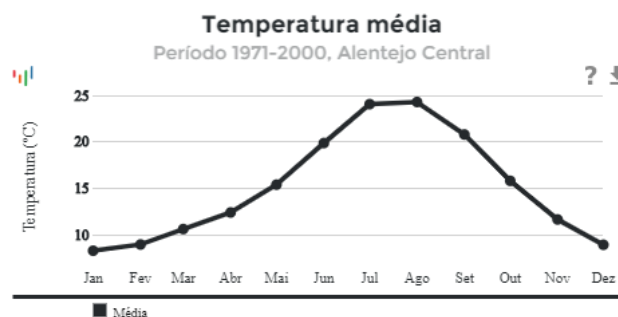


Figura 3. Temperatura média no Alentejo Central ao longo de um período de 30 anos. <http://portaldoclima.pt/pt/>

3.2.1. Condições ambientais na vacaria

As temperaturas do estábulo são controladas e reguladas ao longo do ano. O sistema de controlo ambiental, feito pela *FarmControl*, é composto por termómetros, ventiladores e aspersores. Este sistema contém dois modos, colocados manualmente, o modo Verão e o modo Inverno regulados por valores de ITH no interior da vacaria.

Os ventiladores estão sempre ligados no modo Verão, variando apenas a velocidade consoante o ITH, e no modo Inverno são acionados com um ITH mínimo de 55. Um ITH de 55 corresponde a uma velocidade de 40%, e atinge a velocidade máxima (100%) com um ITH de 68.

Os aspersores são acionados com um ITH mínimo de 68. O intervalo máximo entre aspersões varia entre 10 a 12 minutos, e um intervalo mínimo entre aspersões é de 5 minutos e corresponde a um ITH máximo de 72. Os aspersores permanecem 45 segundos ligados, sendo que em julho, agosto e setembro este tempo pode ir até 60 segundos.

3.3. Escolha dos animais

Foram utilizados colostros de 647 vacas secas recém-paridas para a avaliação do BRIX do colostro e 637 amostras de soro recolhidos de vitelos com idades entre os 3 e os 10 dias para medição das proteínas totais. Estes dados são recolhidos por rotina pela vacaria.

3.4. Índice de temperatura e humidade (ITH)

Um dos aspetos mais limitantes deste estudo foi a incapacidade de obter valores de ITH do interior da vacaria. A avaria do data-logger que regista as temperaturas dos vários sensores que determinam o funcionamento dos aspersores impossibilitou a recolha dos elementos térmico que caracterizaram o ambiente da vacaria. Por outro lado, a necessidade de confinamentos devido à pandemia também impossibilitou a recolha manual desses elementos. Assim, houve necessidade de obter medidas de temperaturas e humidades do exterior como medidas de

aproximação, mas que não refletem com exatidão o ambiente térmico da vacaria. Foram recolhidas as temperaturas do ar (T_{ar}) e a humidade relativa (HR) diariamente pelo centro Geofísico da Universidade de Évora, provenientes da estação mais próxima da exploração, no período entre 1 de janeiro de 2020 e 30 de setembro de 2020. O ITH foi calculado segundo a expressão:

$$0.8 * T_{ar} + HR * (T - 14.4) + 46.4.$$

Para o presente estudo foi considerado stress térmico moderado a partir de um ITH de 72 até aos 79,9, stress térmico elevado entre os 80 e os 89,9, e perigo de vida a partir de um ITH de 90 (Wiersma, 1990; Armstrong, 1994).

3.5. Medição da qualidade do colostro

Tal como explicado anteriormente, após o parto a vaca é encaminhada, pela equipa do maneio, para o parque do pós-parto. Na ordenha mais próxima, a vaca é ordenhada, pela equipa da ordenha, e o colostro é retirado para um recipiente próprio e sujeito avaliação. A avaliação do colostro é feita por rotina, ou pela equipa da ordenha ou pela equipa do maneio dos vitelos, através de um refratómetro digital da marca Misco e do modelo Palm Abbe #PA203 (Figura 4), que mede a percentagem do BRIX indicando a qualidade do colostro.



Figura 4. Refratómetro BRIX digital Misco Palm Abbe #203

Com uma pipeta retira-se o colostro e coloca-se no leitor do refratómetro, fecha-se a tampa, prime-se o botão “BRIX” e regista-se o valor. O colostro foi considerado de boa qualidade com um BRIX igual ou superior a 22.

3.6. Medição de proteínas totais (PT)

A medição das proteínas totais é feita em todos os vitelos entre os 3 e os 10 dias de idade por rotina na exploração. É feita a colheita de sangue na jugular com uma agulha de 21G e uma seringa de 5mL, pela equipa do maneio dos vitelos. A amostra é colocada num tubo seco, e é centrifugada por 15 minutos a 4000rpm, na centrífugadora digital angular *Nahita-Blue* 2615/1 (Figura 5). O soro é pipetado e as proteínas totais são lidas pelo refratómetro ótico portátil com controlo automático de temperatura (ATC) (Figura 5). Os resultados são dados em gramas de proteínas totais presentes num decilitro de sangue. A passagem de imunidade passiva foi considerada bem-sucedida quando as proteínas totais do vitelo se encontram acima das 5g/dl de sangue, limite utilizado na exploração.



Figura 5. Centrífuga angular Nahita-Blue 2615/1 e refratômetro ótico portátil (ATC)

3.7. Análises estatísticas

As análises foram feitas usando o software R versão 4.0.3. e o SPSS versão 25.

Para a análise de correlação entre as variáveis considerou-se o coeficiente de correlação de Spearman, pois em todos os casos, pelo menos uma das variáveis não tinha distribuição normal (pressuposto que foi avaliado conjugando o gráfico qq plot e o teste de Shapiro-Wilk).

Para o estudo da mortalidade, utilizou-se os estimados de Kaplan-Meier para estimar a probabilidade de um animal estar vivo ao fim de t dias, considerando como censurados todos os tempos até à data da venda. O risco de morte (hazard ratio) e respetivo intervalo de confiança para cada variável foram obtidos a partir do ajustamento de modelos de Cox de riscos proporcionais.

Para estudar a associação entre a estação do ano e a causa de morte foi usado um teste qui-quadrado de independência, tendo sido necessário juntar as causas com poucos registos numa única categoria para cumprir o pressuposto de todas as células terem valores esperados superior a 1 e pelo menos 75% das células terem valores esperados pelo menos iguais a 5. Foi feita a interpretação da associação com base nos resíduos standardizados.

Para analisar a relação entre a causa de morte e o TH1 ajustou-se um modelo multinomial, o qual também permitiu estimar a evolução da probabilidade de morte para cada causa em função do aumento do ITH.

Foi ainda ajustado um modelo de regressão logística com a variável dicotómica (0-vivo, 1- morto) em função do BRIX Ingerido e do ITH e um modelo de Cox do tempo até à morte em função das mesmas duas variáveis e nenhuma se mostrou significativa em qualquer dos dois modelos.

4. Resultados e Discussão

4.1. Influência do stresse térmico na qualidade do colostro

Ao contrário do que inicialmente estava previsto, o registo das condições ambientais no interior da vacaria não foi possível de obter devido à avaria dos *data-loggers* e da interrupção do estágio curricular na altura do estudo derivado da pandemia COVID-19. Este registo teria de ser presencial e diário, não sendo registados por rotina na vacaria, como os restantes dados do

estudo. Foram registados estes mesmos dados no exterior da vacaria correspondentes à estação meteorológica da própria exploração, porém um problema nos sensores de temperatura inviabilizou a utilização dos elementos relativos à humidade relativa. Assim, os valores associados ao desconforto térmico foram obtidos através do cálculo do ITH com base na T_{ar} e na HR (ver 3.2), com base nos dados obtidos pelo centro Geofísico da Universidade de Évora e correspondem ao ambiente exterior à vacaria.

Na altura do parto, as vacas encontram-se no interior da vacaria onde as condições ambientais são controladas (ver 2.6.1) e os vitelos são colocados nos alojamentos individuais com acesso ao exterior.

A T_{ar} e a HR ao longo do período de estudo estão representadas nos Gráficos 1 e 2, respetivamente. Pode observar-se as T_{ar} mais baixas no mês de janeiro, começam a subir em maio, e atingem o máximo em julho, mantendo temperaturas elevadas até setembro. A HR é levada no Inverno e na Primavera (entre os meses de janeiro e maio), reduz nos meses de Verão (junho, julho e agosto) e volta a subir em setembro com o Outono.

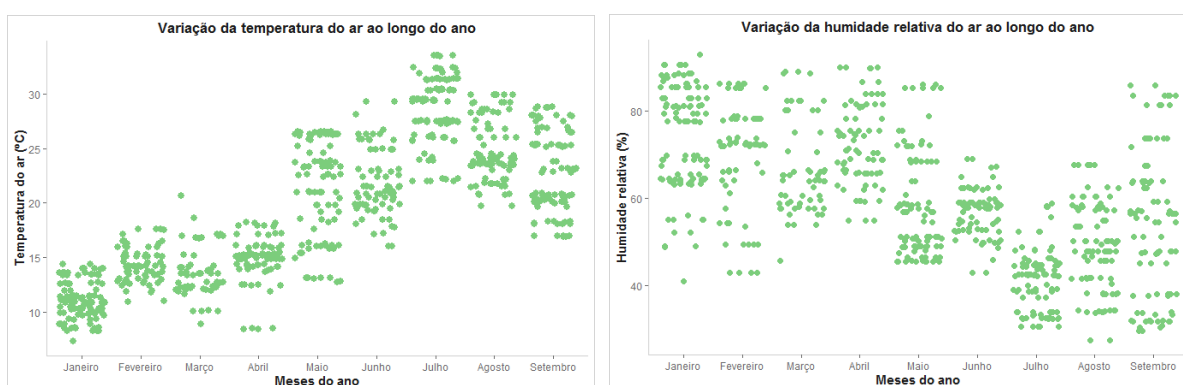


Gráfico 1. Gráfico de dispersão da T_{ar} entre janeiro e setembro de 2020.

Gráfico 2. Gráfico de dispersão da HR entre janeiro e setembro de 2020.

Com base no Gráfico 3 podemos observar que os valores das médias e das medianas são próximos, o que indica uma distribuição simétrica dos dados, podendo os resultados observados ser sumarizados por uma destas medidas.

Existe uma correlação positiva significativa (valor $p < 0.001$) e muito elevada ($\rho_{\text{Spearman}} = 0.997$) entre a temperatura e o ITH, como podemos observar pela semelhança da forma dos dados, e uma correlação significativa (valor $p < 0.001$), forte e inversa ($\rho_{\text{Spearman}} = -0.793$) entre a humidade relativa e o ITH.

Nestas condições as vacas sofrem um stresse térmico, como era de esperar num clima Alentejano (temperado com Verão quente e seco), sendo que em climas secos é normal que a temperatura seja o fator mais predominante. Enquanto que em climas mais húmidos, é a humidade relativa que pode determinar um acréscimo de desconforto por incapacidade de perder calor por via evaporativa (Bohmanova et al., 2007).

Considerou-se o stresse térmico moderado acima de um ITH de 72 até aos 79,9. Considerando estes valores, pode observar-se na Tabela 1 que entre o mês de janeiro e o mês de abril, não

houve animais em risco de stresse térmico por calor. No mês de maio, observou-se 25% dos dias com grande probabilidade de stress térmico moderado por calor (ITH entre os 72,02 e 73,80) e em junho menos de 25% dos dias do mês. O mês de julho destaca-se por apresentar mais de 75% do mês com probabilidade de haver animais em risco de stresse térmico, e um ITH máximo de 79,04, quase em stresse térmico elevado. Em agosto quase metade do mês houve probabilidade dos animais estarem em de stresse térmico, não tendo atingindo valores de ITH tão elevados como em julho. Estes valores diminuem em setembro em que menos de 25% dos dias com probabilidade de stresse térmico moderado.

Porém, é importante distinguir as condições monitorizadas fora da vacaria daquelas que ocorreram efetivamente dentro da vacaria. Atendendo a que, os ventiladores estão permanentemente ligados durante o Verão (período de grande probabilidade de stresse térmico) e que são acionados no Inverno a partir de um valor de ITH de 55, e que os aspersores se ligam a partir do ITH 68, é óbvio que o ambiente na vacaria seria muito diferente daquele do exterior.

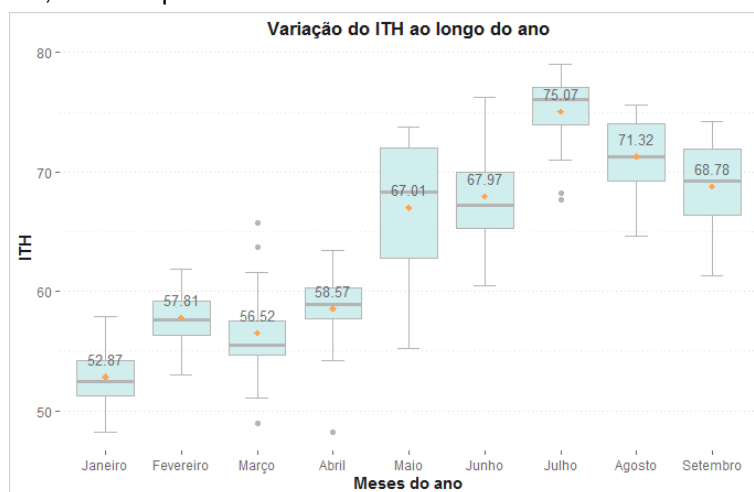


Gráfico 2. Variação do ITH entre janeiro e setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média.

Tabela 1. Estatística descritiva do THI

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Total
Mínimo	48,20	53,02	49,00	48,28	55,26	60,45	67,66	64,64	61,31	48,20
1ºQ	51,25	56,31	54,71	57,72	62,82	65,25	73,99	69,21	66,41	57,18
Mediana	52,50	57,62	55,47	58,96	68,28	67,23	76,05	71,30	69,27	65,40
Média	52,87	57,81	56,52	58,57	67,01	67,97	75,07	71,32	68,78	64,38
3ºQ	54,20	59,16	57,52	60,27	72,02	70,03	77,06	74,08	71,90	71,84
Máximo	57,92	61,92	65,71	63,46	73,80	76,25	79,04	75,62	74,24	79,04

Para relacionar o ITH com a qualidade do colostro, recolheu-se amostras de colostro e quantificou-se a sua qualidade (ver 3.3). Estes resultados correspondem à variável BRIX produzido e estão representados no Gráfico 4.

A dispersão e proximidade dos resultados mostram que não há diferenças significativas no BRIX produzido ao longo do ano. Considerou-se um colostro de boa qualidade um colostro com um BRIX maior ou igual a 22, sendo que 75% do total dos colostros encontram-se acima deste valor. A média mais baixa corresponde a 23,7 no mês de janeiro, e a média mais alta no mês de

setembro (25,78). Seria de esperar que os meses com BRIX mais baixo fossem os meses de Verão, especialmente o mês de julho (que apresentou um ITH maior), no entanto foi dos meses com o valor de BRIX mais elevado. Podemos confirmar estes valores na Tabela 2.

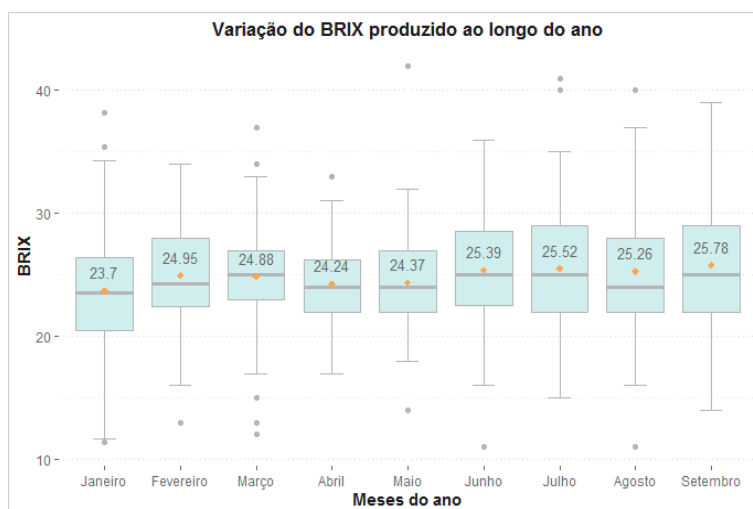


Gráfico 5. Variação do BRIX produzido de janeiro a setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média

Tabela 2. Estatística descritiva do BRIX produzido

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Total
Mínimo	11,4	13,00	12,00	17,00	14,00	11,00	15,00	11,00	14,00	11,00
1ºQ	20,5	22,40	23,00	22,00	22,00	22,50	22,00	22,00	22,00	22,00
Mediana	23,5	24,30	25,00	24,00	24,00	25,00	25,00	24,00	25,00	24,05
Média	23,7	24,95	24,88	24,24	24,37	25,39	25,52	25,26	25,78	24,91
3º	26,4	28,00	27,00	26,25	27,00	28,50	29,00	28,00	29,00	28,0
Máximo	38,2	34,00	37,00	33,00	42,00	36,00	41,00	40,00	39,00	42,00

Como podemos observar no Gráfico 5 não se verifica uma correlação significativa entre o BRIX produzido e o ITH observado no exterior da vacaria (valor $p = 0.150$). Apesar do ITH ter uma variação significativa ao longo do ano, o BRIX não variou significativamente.

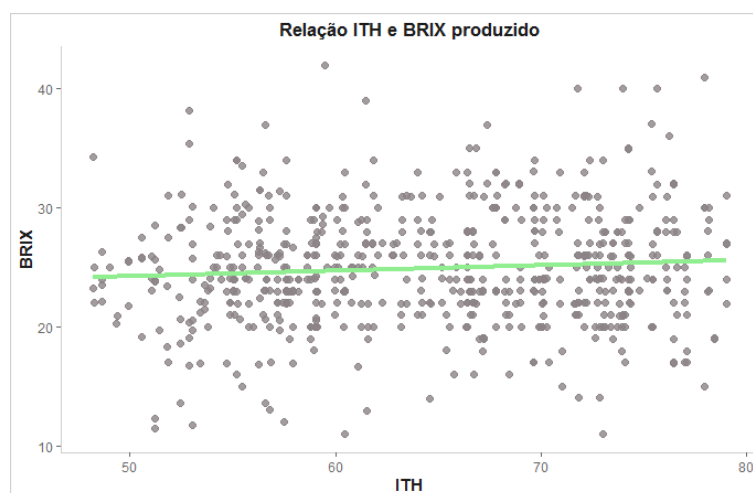


Gráfico 8. Relação ITH e BRIX produzido e regressão linear entre as duas variáveis.

As vacas secas apenas estão expostas às condições ambientais durante um mês (logo após a secagem) mas voltam ao estábulo no período da colostrogénese, que se inicia umas semanas antes do parto. Tendo em conta que as temperaturas registadas não correspondem às temperaturas do estábulo, estes resultados podem ser explicados pelo facto as vacas se encontrarem num ambiente bem controlado dentro da vacaria, ou seja, à partida revela que houve um ambiente térmico que não proporcionou um nível de stresse térmico suficiente que tivesse desencadeado respostas que tivessem conduzido a alterações na qualidade do colostro.

A qualidade do colostro pode ser afetada por diferentes fatores: raça, número de lactações, stresse térmico, vacinação, duração do período seco. O estudo presente focou-se apenas no stresse térmico. Pritchett et al. em 1991 não encontraram diferenças significativas na influência das condições climáticas e a qualidade do colostro.

Nardone et al. em 1997, Morin et al. em 2001 e Gulliksen et al. em 2008 encontraram uma influência significativa das estações do ano na concentração de IgG. Nardone et al. (1997) confirmou que as temperaturas elevadas influenciam a composição de vários componentes do colostro, incluindo a concentração de IgG. Morin et al. (2001) apresentaram concentrações de IgG mais elevados no Outono e menores no Verão, tendo em conta que o clima em que o estudo foi realizado apresenta um Verão com temperatura e humidade relativa elevadas. Gulliksen et al. (2008), estudo realizado na Noruega, mostrou níveis significativamente mais baixos no Inverno do que nas restantes estações, o que pode ser explicado pela localização do estudo que apresenta temperaturas abaixo da zona de termoneutralidade das vacas leiteiras, ao contrário das restantes estações do ano apresentam temperaturas dentro da zona de termoneutralidade.

4.2. Influência do stresse térmico na transferência de imunidade passiva

O segundo objetivo do estudo era perceber se o ambiente térmico a que os vitelos estavam sujeitos iria influenciar a TIP, medida pelas PT presentes no sangue. Tendo em consideração a análise individual do BRIX do colostro ingerido e as PT medidas no sangue, verificou-se que não existiram diferenças significativas entre os meses (Gráfico 6).

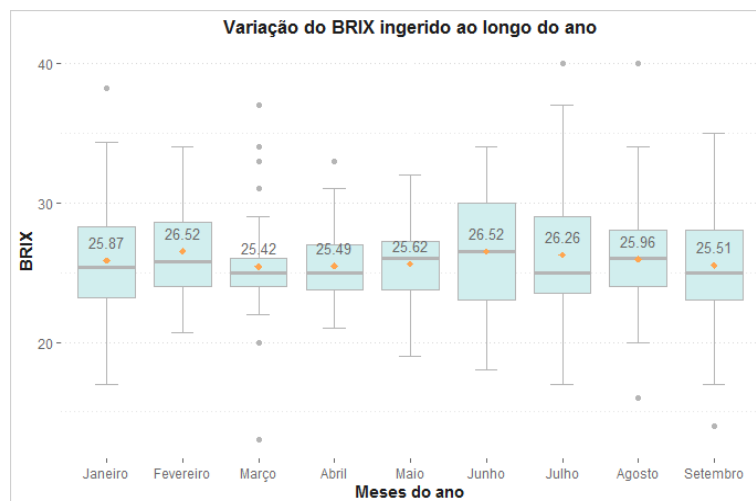


Gráfico 11. Variação do BRIX ingerido entre janeiro e setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média

Os resultados não demonstram diferenças significativas entre os meses, no entanto mostram ser mais elevados que o BRIX produzido, como podemos confirmar na Tabela 3. De notar que, nos poucos casos em que o BRIX da mãe do vitelo não apresentava a qualidade necessária, era fornecido ao vitelo colostro de outra vaca com BRIX acima dos valores mínimos (BRIX inferior a 22), o que explica os valores superiores.

Tabela 3. Estatística descritiva do BRIX Ingerido

		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Total
BRIX Ingerido	Mínimo	17,00	20,70	13,00	21,00	19,00	18,00	17,00	16,00	14,00	13,00
	1ºQ	23,20	24,00	24,00	23,75	23,75	23,00	23,50	24,00	23,00	23,00
	Mediana	25,40	25,80	25,00	25,00	26,00	26,50	25,00	26,00	25,00	25,7
	Média	25,87	26,52	25,42	25,49	25,62	26,52	26,26	25,96	25,51	25,9
	3ºQ	28,30	28,60	26,00	27,00	27,25	30,00	29,00	28,00	28,00	28,00
	Máximo	38,20	34,00	37,00	33,00	32,00	34,00	40,00	40,00	35,00	40,00
	NA	43	18	3	8	15	14	13	41	11	166

As PT são obtidas através da quantificação de proteínas totais no sangue (ver 3.4), considerou-se a TIP bem-sucedida quando se atingem valores superiores ou iguais a 5mg/l de proteínas totais no sangue do vitelo. Estes resultados estão representados no Gráfico 7 e na Tabela 4. Como se pode constatar ocorrem algumas diferenças significativas, especialmente no mês de julho, o mais quente do ano, em que se observam os resultados mais baixos de PT, e que mais de 75% dos resultados se encontram abaixo do limite estabelecido.

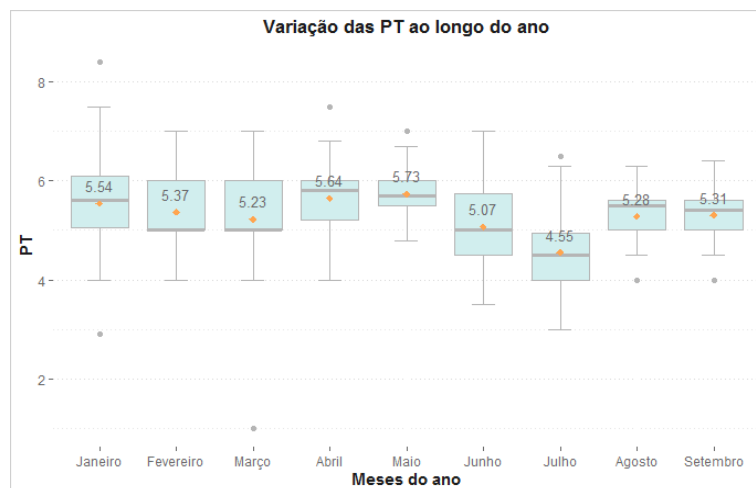


Gráfico 14. Variação das PT presentes no soro entre janeiro e setembro de 2020. As caixas de bigodes mostram a dispersão dos dados, o ponto amarelo representa a média e o valor apresentado corresponde à média

Tabela 4. Estatística descritiva relativa às PT

		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Total
PT	Mínimo	2,9	4,00	1,00	4,00	4,80	3,50	3,00	4,00	4,00	1,00
	1ºQ	5,050	5,00	5,00	5,200	5,50	4,50	4,00	5,00	5,00	5,00
	Mediana	5,6	5,00	5,00	5,80	5,70	5,00	4,50	5,50	5,40	5,4
	Média	5,54	5,37	5,23	5,64	5,74	5,07	4,55	5,28	5,31	5,31
	3ºQ	6,100	6,00	6,00	6,00	6,00	5,75	4,95	5,6	5,60	5,8
	Máximo	8,400	7,00	7,00	7,50	7,00	7,00	6,50	6,30	6,40	8,4
	NA	48	19	5	12	29	24	37	53	28	255

Tal como a qualidade do colostro, também existem diferentes fatores que podem afetar TIP, como volume ingerido insuficiente, concentração de Ig presentes no colostro, tempo da ingestão inadequado e absorção sem sucesso.

A correlação BRIX ingerido com as PT no sangue não é significativa (valor $p = 0.595$) (Gráfico 8). Tendo em conta que o BRIX ingerido não tem diferenças significativas, este não era um resultado esperado.

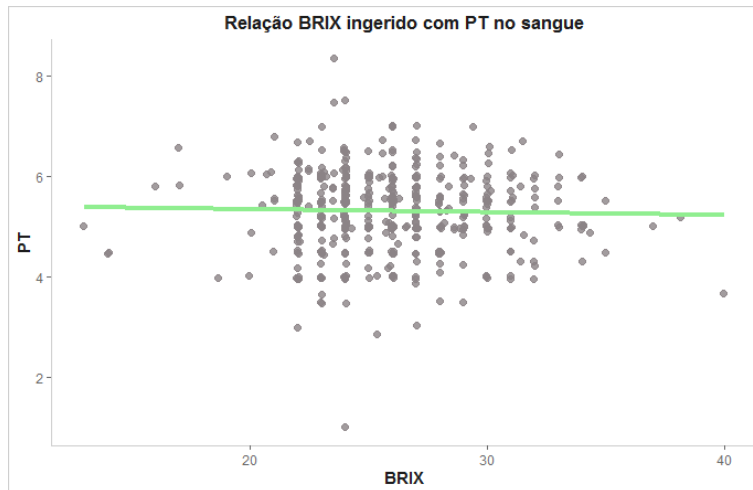


Gráfico 16. Relação BRIX ingerido e as PT e regressão linear entre as duas variáveis

Observando os dados das PT, pode observar-se que o gráfico apresenta uma distribuição com algumas semelhanças à distribuição do ITH. Neste sentido, foi relevante correlacionar as PT com o ITH. Apesar de os limites de ITH ainda não serem bem conhecidos em vitelos, a relação entre a T_{ar} e as PT é muito semelhante à relação entre o ITH e as PT ($\rho_{\text{Spearman}} = -0.225$ e $\rho_{\text{Spearman}} = -0.231$, respetivamente). Como se pode observar no Gráfico 9, existe uma relação significativa (valor $p < 0,001$) entre o ITH e as PT. É uma correlação negativa ($\rho_{\text{Spearman}} = -0.231$), ou seja, a tendência é que, quando o ITH (ou a T_{ar}) aumenta as PT diminuam, não sendo, no entanto, uma relação muito forte.

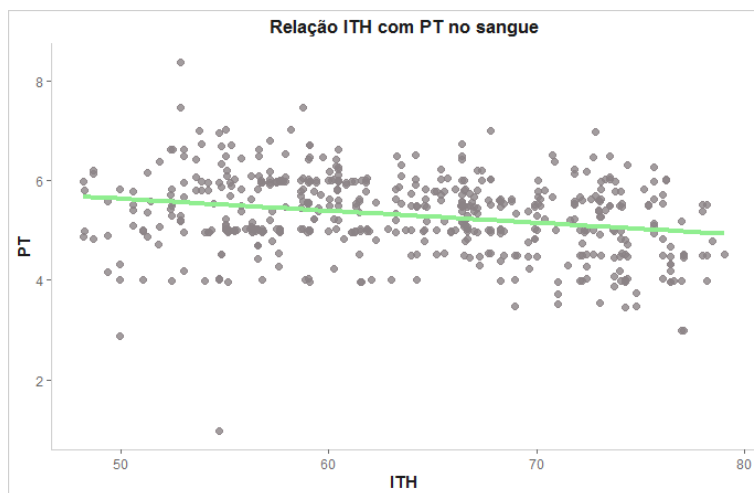


Gráfico 19. Relação ITH e as PT e regressão linear entre as duas variáveis.

Os menores valores de PT durante o mês mais quente, permite suspeitar de menor eficiência de absorção de imunoglobulinas nestas condições ambientais. Na verdade, os vitelos foram alimentados com colostro com BRIX muito semelhantes, mas o reflexo dessa ingestão foi diferente no mês mais quente. Tal pode dever-se à maior proteção ambiental a que as vacas estão sujeitas na vacaria e à maior heterogeneidade ambiental que ocorre na zona dos viteiros que estão situados na extremidade dos pavilhões e, portanto, menos sujeitos aos efeitos da climatização e que pode explicar também a correlação observada.

Os valores de PT são determinados pela quantidade de albumina e imunoglobulinas presentes no sangue, sendo que as imunoglobulinas absorvidas através do colostro constituem a maior parte da proteína encontrada no sangue de recém-nascidos, a proteína total está diretamente relacionada com a concentração de imunoglobulinas. Porém alterações como hidratação em excesso ou a perda proporcional dos dois tipos de proteínas, falha na produção ou aumento da perda de albumina ou desidratação podem enviesar os resultados porque alteram a concentração das proteínas (mantendo a mesma quantidade).

Quando a temperatura ambiente está fora da zona de termoneutralidade pode afetar diretamente os mecanismos de absorção intestinal, mas também o transporte de imunoglobulinas. Esta incapacidade pode ser explicada pela libertação de hormonas produzidas pelo stresse como os corticosteroides (Quigley, 2002), visto que podem influenciar a permeabilidade do intestino delgado dos vitelos à absorção de macromoléculas (Stott et al., 1976).

A falha de TIP é o maior fator de risco de mortalidade e morbidade nos vitelos. Contudo, a falha de TIP não implica que um animal não seja saudável, apenas que esteja mais suscetível e em maior risco de contrair alguma doença infecciosa ou maior perigo de morrer por incapacidade de resposta do sistema imunitário. Para ter uma avaliação mais completa optou-se por usar as taxas de mortalidade ao longo dos meses.

A taxa de mortalidade também foi considerada neste estudo, no entanto os valores não estão presentes, por uma questão de confidencialidade. Constatou-se uma variação sazonal na taxa de mortalidade com uma maior taxa de mortalidade nos meses de Inverno e nos meses de Verão. Tal pode eventualmente atribuir-se, às mais temperaturas extremas e à sensibilidade do sistema termorregulador do vitelo. Tendo em conta que a zona de termoneutralidade dos vitelos se encontra aproximadamente entre os 13°C e os 25°C (Wang *et al.*, 2020). Em geral, a taxa de mortalidade é maior no Inverno do que no Verão, no entanto esta também é elevada no Verão (Uetake, 2013). Neste estudo podem observar-se as taxas absolutas mais elevadas em janeiro, fevereiro, maio e junho.

Apesar da distribuição da mortalidade ocorrer principalmente nos meses mais frios e em junho, esta não parece estar associada à falha de TIP, pois os menores valores de PT, suscetíveis de representarem algum deficit de imunidade, são apenas significativamente mais baixos em julho em que mais de 75% da população apresentou níveis de PT abaixo do nível recomendada. Demonstra-se assim que, mesmo que não ocorra falha na TIP, outros fatores podem ter impacto na taxa de mortalidade, e devido a diferentes causas que foram registadas e avaliadas.

Em janeiro e junho foram os meses em que ocorreram taxas de mortalidade superiores. Em janeiro esta taxa pode ser explicada pelas baixas temperaturas que proporcionam a ocorrência de maior incidência de nado-mortos, diarreias neonatais, e posteriormente pneumonias. Em junho a taxa de mortalidade não pode ser explicada por estes fatores. Nestes casos mantém-se os nados mortos e as diarreias mais tardias com relevância numérica, os quais vão perdendo

importância com o avanço do Verão. No Verão, outras causas diversas são responsáveis pela mortalidade dos vitelos, onde se destacam alguns casos de hipertermia.

5. Conclusão

A influência do stresse térmico pelo calor na qualidade de colostro não foi significativa, sendo a hipótese mais provável o bom sistema de climatização no interior da vacaria. Este sistema é controlado pela *FarmControl*, e é constituído por ventiladores e aspersores que são acionados pelo ITH. Não foi possível medir as condições climáticas no interior da vacaria, o que não possibilitou ter resultados mais fiáveis.

A relação entre a qualidade do colostro e a transferência de imunidade passiva não foi possível encontrar, tendo em conta que os colostros de má qualidade não foram administrados. A variação da qualidade do colostro não demonstrou ter diferenças muito significativas, e a avaliação da TIP pela medição de PT presentes no sangue do vitelo, deve ser feita entre as 24h até no máximo três dias após a ingestão do colostro. A recolha e medição das PT foi feita entre os três e os dez dias que pode ter influenciado os resultados.

O ITH e as PT apresentaram uma correlação significativa, que pode ser explicada pelo facto de os vitelos se encontrarem mais expostos às condições climáticas. No entanto, a variação das PT apenas demonstra uma diferença significativa em julho que corresponde ao mês com temperaturas mais elevadas. A taxa de mortalidade apresenta uma variação sazonal, com taxas mais elevadas em janeiro, fevereiro, maio e junho, que pode estar associada tanto às temperaturas extremas, como ao número de nascimentos como com o manejo.

O trabalho prático desta dissertação apresentou algumas limitações que não foram possíveis ser contornáveis pela pandemia COVID-19. O estágio curricular foi interrompido, não permitindo a correção de falhas no delineamento experimental. A recolha da temperatura e humidade no interior da vacaria e a recolha de outras possíveis dados para complementar a compreensão dos resultados obtidos, como o exame físico dos vitelos ou a observação diária do manejo dos mesmos, por exemplo. Os dados recolhidos foram limitados aos dados registados por rotina na exploração para controlo interno.

Em suma, o presente estudo não teve resultados significativos e apresentou algumas limitações na obtenção de dados relevantes. Ainda há pouca bibliografia sobre a influência do stresse térmico na qualidade do colostro e na transferência de imunidade passiva dos vitelos, sendo necessários mais estudos sobre o tema.

Num estudo futuro, é sugerido que sejam registadas as condições ambientais no interior da vacaria e que estes dados sejam complementados com outros indicadores de stresse térmico como a ingestão de água, ingestão de matéria seca, medição temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória, medição do tempo em estação e deitado ou medição do cortisol ou outra hormona mais específica. Também seria importante ajustar os ITH da vacas e vitelos, tendo em

conta que têm zonas de termoneutralidade diferentes. Por outro lado, seria interessante ter um grupo controlo, sujeito às condições ambientais externas, para comparação.

Para uma melhor compreensão da influência da qualidade do colostro na TIP seria interessante administrar todos os colostros, incluindo os colostros de má qualidade. Em relação à medição da TIP é sugerido que a recolha de PT seja feita mais cedo para uma avaliação mais fiável, complementando com registos importantes como um exame físico e o registo de doenças infecciosas, assim como partos distócicos.

Já existem alguns estudos recentes que demonstram o impacto da saúde e bem-estar dos vitelos principalmente nas primeiras semanas de vida, na saúde, no bem-estar e na produção das futuras vacas leiteiras. Este estudo demonstra que a qualidade do colostro não é suficiente para garantir a saúde dos vitelos, sendo de extrema importância um bom alojamento, a alimentação e um bom maneio. Garantir o bem-estar das mães, também mostra ser bastante relevante, tendo em conta que pode impactar tanto não só a qualidade do colostro, como a imunidade, a vitalidade, o ganho médio diário, entre outros.

6. Bibliografia

- Ahmed SA & Schuring GG (2013a). Antigens and Innate Immunity. Em *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. 5.^a Edição, Elsevier, pp. 569–577.
- Ahmed SA & Schuring GG (2013b). The Specific Immune Response: Acquired Immunity. Em *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. 5.^a Edição, Elsevier, pp. 578–586.
- Armstrong DV (1994). Heat Stress Interaction with Shade and Cooling. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2044–2050.
- Balmford A, Amano T, Bartlett H, Chadwick D, Collins A, Edwards D, Field R, Garnsworthy P, Green R, Smith P, Waters H, Whitmore A, Broom DM, Chara J, Finch T, Garnett E, Gathorne-Hardy A, Hernandez-Medrano J, Herrero M, Eisner R (2018). The environmental costs and benefits of high-yield farming. *Nature sustainability*, 1(9), 477–485.
- Barrington G M & Parish SM (2001). Bovine Neonatal Immunology. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 17(3), 463–476.
- Barry J, Kennedy E, Sayer R, de Boer I & Bokkers E. (2019). Development of a welfare assessment protocol for dairy calves from birth through to weaning. *Animal Welfare*, 28(3), 331–344.
- Beam AL, Lombard JE, Koprak CA, Garber LP, Winter AL, Hicks JA & Schlater JL. (2009). Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *Journal of Dairy Science*, 92(8), 3973–3980.
- Besser TE & Gay CC (1985). Septicemic Colibacillosis and Failure of Passive Transfer of Colostral Immunoglobulin in Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 1(3), 445–459.
- Besser T, Gay C & Pritchett L. (1991). Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198, 419–422.
- Bohmanova J, Misztal I & Cole JB. (2007). Temperature-Humidity Indices as Indicators of Milk Production Losses due to Heat Stress. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1947.
- Bond GB, de Almeida R, Ostrensky A & Molento CFM. (2012). Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. *Ciência Rural*, 42(7), 1286–1293.
- Broom D (2007). Quality of life means welfare: How is it related to other concepts and assessed? *Animal Welfare*, 16(2), 45–53.
- Broom D (2011). Bem-estar animal. Em *Comportamento Animal*, 2^a Edição, UFRN, pp. 457–482.
- Broughton CW & Lecce JG (1970). Electron-microscopic studies of the jejunal epithelium from neonatal pigs fed different diets. *The Journal of Nutrition*, 100(4), 445–449.

- Buczinski S, Gicquel E, Fecteau G, Takwoingi Y, Chigerwe M & Vandeweerd JM. (2018). Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy of Serum Refractometry and Brix Refractometry for the Diagnosis of Inadequate Transfer of Passive Immunity in Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 474–483.
- Carroll JA & Forsberg NE (2007). Influence of Stress and Nutrition on Cattle Immunity. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(1), 105–149.
- Charleston B, Fray MD, Baigent S, Carr BV & Morrison WI (2001). Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type I interferon. *Journal of General Virology*, 82(8), 1893–1897.
- Chase CCL, Hurley DJ & Reber AJ (2008). Neonatal Immune Development in the Calf and Its Impact on Vaccine Response. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 87–104.
- Chucrí TM, Monteiro JM, Lima AR, Salvadori MLB, Junior JRK Miglino MA (2010). A review of immune transfer by the placenta. *Journal of Reproductive Immunology*, 87(1), 14–20.
- Collier RJ, Baumgard LH, Zimbelman RB & Xiao Y (2019). Heat stress: Physiology of acclimation and adaptation. *Animal Frontiers*, 9(1), 12–19.
- Collier RJ, Dahl GE & VanBaale MJ (2006). Major Advances Associated with Environmental Effects on Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1244–1253.
- Dahl GE, Tao S & Laporta J (2020). Heat Stress Impacts Immune Status in Cows Across the Life Cycle. *Frontiers in Veterinary Science*. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00116>
- Dairy Australia. (2017). *Rearing Healthy Calves, 2ª Edição*, Dairy Australia, Australia
- Davidson AP & Stabenfeldt GH (2013). The Mammary Gland. Em *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. 5.ª Edição, Elsevier, pp. 439–450.
- Day MJ & Schultz RD (2014). *Veterinary Immunology, Principles and Practice*, 2ª Edição. S. Edition CRC Press.
- Souza RS, dos Santos LBC, Melo IO, Cerqueira DM, Dumas JV, Leme F de OP, Moreira TF, Meneses RM, de Carvalho AU & Facury-Filho EJ (2021). Current Diagnostic Methods for Assessing Transfer of Passive Immunity in Calves and Possible Improvements: A Literature Review. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 11(10), 2963.
- Desjardins-Morrisette M, van Niekerk JK, Haines D, Sugino T, Oba M & Steele MA (2018). The effect of tube versus bottle feeding colostrum on immunoglobulin G absorption, abomasal emptying, and plasma hormone concentrations in newborn calves. *Journal of Dairy Science*, 101(5): 4168–4179.

Diretiva: 2008/119/CE de 18 de dezembro, Bem-estar animal - relativa às normas mínimas de proteção de vitelos, DGAV

Edwards SA & Broom DM (1979). The period between birth and first suckling in dairy calves. *Research in Veterinary Science*, 26(2): 255–256.

EFSA. (2006). Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission related with the risks of poor welfare in intensive calf farming systems. *EFSA Journal*,. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2006.366>

EFSA. (2009). Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from European Commission on the overall effects of farming systems on dairy cow welfare and disease. *The EFSA Journal*, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1143>

Fabris TF, Laporta J, Skibieli AL, Corra FN, Senn BD, Wohlgemuth SE & Dahl GE (2019). Effect of heat stress during early, late, and entire dry period on dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 102(6): 5647–5656.

Foley JA & Otterby DE (1978). Availability, Storage, Treatment, Composition, and Feeding Value of Surplus Colostrum: A Review 1, 2. *Journal of Dairy Science*, 61(8): 1033–1060.

Ganaie AH, Shanker G, Bulma NA, Ghasura RS & Mir NA (2013). Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovines. *Journal of Veterinary Science Technic*, 4(1): 1–6.

Gantner V, Mijić P, Jovanovac S, Raguž N, Bobić T & Kuterovac K (2010). Influence of temperature-humidity index (THI) on daily production of dairy cows in Mediterranean region in Croatia. *European Federation of Animal Sciences Scientific Series*, 131(1): 71-80

Godden SM, Lombard JE & Woolums AR (2019). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 35(3): 535–556.

Gulliksen SM, Lie KI, Sølverød L & Østerås O (2008). Risk Factors Associated with Colostrum Quality in Norwegian Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 91(2): 704–712.

Guy MA, McFadden TB, Cockrell DC & Besser TE (1994). Regulation of Colostrum Formation in Beef and Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 77(10): 3002–3007.

Hailu M, Ambaw B, Mulueh G, Singa AK & Woinue Y (2019). Review on Colostrum and Passive Immunity in new born calves. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 6(1): 739-751

Hammon HM, Steinhoff-Wagner J, Flor J, Schönhusen U & Metges CC (2013). Role of colostrum and colostrum components on glucose metabolism in neonatal calves. *Journal of Animal Science*, 91(2): 685–695.

Herbut P & Angrecka S (2018). The effect of heat stress on time spent lying by cows in a housing system. *Annals of Animal Science*, 18(3), 825–833.

- Hodgins DC & Shewen PE (1996). Preparturient vaccination to enhance passive immunity to the capsular polysaccharide of *Pasteurella haemolytica* A1. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 50(1): 67–77.
- Holsapple MP, West LJ & Landreth KS (2003). Species comparison of anatomical and functional immune system development. *Development and Reproductive Toxicology* 68(4): 321–334.
- Hristov S, Stanković B, Todorovic-Joksimovic M, Mekic C, Zlatanovic Z, Andric D & Maksimovic N (2011). Welfare problems in dairy calves. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 27: 1417–1424.
- IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Obtido 5 de Outubro de 2020, de <https://www.ipma.pt/pt/educativa/tempo.clima/>
- Jeelani R, Konwar D, Khan A, Kumar D, Chakraborty D & Brahma B (2019). Reassessment of temperature-humidity index for measuring heat stress in crossbred dairy cattle of a sub-tropical region. *Journal of Thermal Biology*, 82: 99–106.
- Ježek J, Grabnar P, Beci B, Klinkon M, Nemec M, Hodnik JJ & Starič J (2019). Management Practices Affecting Calves Welfare on Farms in Slovenia. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 67(5): 1147–1152.
- Laporta J, Ferreira FC, Ouellet V, Dado-Senn B, Almeida AK, Vries AD & Dahl GE (2020). Late-gestation heat stress impairs daughter and granddaughter lifetime performance. *Journal of Dairy Science*, 103(8): 7555–7568.
- Larson BL, Heary HL & Devery JE (1980). Immunoglobulin Production and Transport by the Mammary Gland. *Journal of Dairy Science*, 63(4): 665–671.
- Lateur-Rowet HJM & Breukink HJ (1983). The failure of the oesophageal groove reflex, when fluids are given with an oesophageal feeder to newborn and young calves. *Veterinary Quarterly*, 5(2). 68–74.
- McGuirk SM & Collins M (2004). Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20(3): 593–603.
- McNulty MS & Logan EF (1987). Effect of vaccination of the dam on rotavirus infection in young calves. *The Veterinary Record*, 120(11): 250–252.
- Moran J (2002). Calf rearing: A practical guide. *Calf Rearing: A Practical Guide*. 2^o Edição. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20023173644>
- Morin DE, Constable PD, Maunsell FP & McCoy GC (2001). Factors Associated with Colostral Specific Gravity in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 84(4): 937–943.
- Muller LD & Ellinger DK (1981). Colostral Immunoglobulin Concentrations Among Breeds of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 64(8). 1727–1730.

Nardone A, Lacetera N, Bernabucci U & Ronchi B (1997). Composition of Colostrum from Dairy Heifers Exposed to High Air Temperatures During Late Pregnancy and the Early Postpartum Period. *Journal of Dairy Science*, 80(5): 838–844.

Newby TJ, Stokes CR & Bourne FJ (1982). Immunological activities of milk. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 3(1): 67–94.

Noordhuizen J & Bonnefoy JM (2015). Heat Stress in Dairy Cattle: Major Effects and Practical Management Measures for Prevention and Control. *Symbiosis Journal of Veterinary Sciences*, 1(1): 1–7.

OIE - World Organization for Animal Health (2017). Animal Welfare and Dairy Cattle Production System (Chapter 7.11). Terrestrial Animal Health Code. Acesso online: https://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_aw_dairy_cattle.htm - Consultado em Novembro de 2020

Paranhos da Costa MJR & Silva LCM (2014). Boas Práticas de Manejo. *Bezerros Leiteiros*, 1a Edição, Funep.

Polsky L & Keyserlingk MAG (2017). Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *Journal of Dairy Science*, 100(11): 8645–8657.

Prasad A, Muhammed EM, Kannan A & Aravindakshan TV (2012). Thermal Stress I Dairy Cattle. *Journal of India Veterinary Association*, 10(3): 45–51.

Pritchett LC, Gay CC, Besser TE & Hancock DD (1991). Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 74(7): 2336–2341.

Portal do clima: <http://portaldoclima.pt/pt/>, consultado em Novembro de 2020

Quigley J (2001). *Calf Note #39 – Using a refractometer*. Acedido em Março de 2022, disponível em: <http://calfnote.com/pdf/CN039.pdf>

Quigley J (2002). Passive Immunity in Newborn Calves. *Advances in Dairy Technology*, 14: 273–292.

Relatório especial: n.º 31, 2018, Bem-estar dos animais na EU: reduzir o desfasamento entre objetivos ambiciosos e aplicação prática, European Court of Auditors, Publicações UE. <https://data.europa.eu/doi/10.2865/952482>

Robinson NE (2013). Thermoregulation. Em *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*, 5.a Edição, Elsevier, pp. 559–568

Robison JD, Stott GH & DeNise SK (1988). Effects of Passive Immunity on Growth and Survival in the Dairy Heifer 1, 2. *Journal of Dairy Science*, 71(5): 1283–1287.

- Rollin BE (2019). The Meaning of Animal Welfare and Its Application to Cattle. Em *The Welfare of Cattle*, 1.a Edição, Taylor and Francis Group, pp. 63–72
- Romo MR, Pérez-Martínez D & Ferrer CC (2016). Innate immunity in vertebrates: An overview. *Immunology*, 148(2): 125–139.
- Salgueiro M & Almeida JC (2016). O Stress do Calor em Vacas Leiteiras: 1. Mecanismos Fisiológicos e Consequências Produtivas. *Vaca Leiteira - Revista da Associação Portuguesa de produtores da vaca frísia*, <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4644.5202>
- Sant'Anna AC, Paranhos da Costa MJR & Madureira AP (2014). Boas práticas de manejo. Conforto. *Vacas em lactação*, 1a Edição, Funep.
- Schroder HJ & Power GG (1997). Engine and radiator: Fetal and placental interactions for heat dissipation. *Experimental Physiology*, 82(2): 403–414.
- Schultz RD, Dunne HW & Heist CE (1973). Ontogeny of the Bovine Immune Response. *Infection and Immunity*, 7(6): 981–991.
- Scully C, Georgakopoulou EA & Hassona Y (2017). The immune system: Basis of so much health and disease: 3. adaptive immunity. *Dental Update*, 44(4): 322–327.
- Shivley CB, Lombard JE, Urie NJ, Haines DM, Sargent R, Koprak CA, Earleywine TJ, Olson JD & Garry FB (2018). Preweaned heifer management on US dairy operations: Part II. Factors associated with colostrum quality and passive transfer status of dairy heifer calves. *Journal of Dairy Science*, 101(10): 9185–9198.
- Smith GW, Alley ML, Foster DM, Smith F & Wileman BW (2014). Passive Immunity Stimulated by Vaccination of Dry Cows with a Salmonella Bacterial Extract. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(5): 1602–1605.
- Staley TE, Corley LD, Bush LJ & Jones EW (1972). The ultrastructure of neonatal calf intestine and absorption of heterologous proteins. *The Anatomical Record*, 172(3): 559–579.
- Stott GH, Marx DB, Menefee BE & Nightengale GT (1979a). Colostral immunoglobulin transfer in calves II. The rate of absorption. *Journal of Dairy Science*, 62(11): 1766–1773.
- Stott GH, Marx DB, Menefee BE & Nightengale GT (1979b). Colostral immunoglobulin transfer in calves. III. Amount of absorption. *Journal of Dairy Science*, 62(12): 1902–1907.
- Stott GH, Wiersma F, Menefee BE & Radwanski FR. (1976). Influence of Environment on Passive Immunity in Calves. *Journal of Dairy Science*, 59(7): 1306–1311.
- Tao S & Dahl GE (2013). Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science*, 96(7): 4079–4093.
- Thatcher EF & Gershwin LJ (1989). Colostral transfer of bovine immunoglobulin E and dynamics of serum IgE in calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 20(4): 325–334.

Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A & Weiser G (2004) *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*, Lippincott Williams & Wilkins, USA. pp.403-411.

Uetake K (2013). Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Animal Science Journal*, 84(2): 101–105.

Vasseur E, Borderas F, Cue R, Lefebvre D, Pellerin D, Rushen J, Wade, K & de Passille AM (2010). A survey of dairy calf management practices in Canada that affect animal welfare. *Journal of dairy science*, 93: 1307–1315.

Wang J, Li J, Wang F, Xiao J, Wang Y, Yang H, Li S & Cao Z (2020). Heat stress on calves and heifers: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00485-8>

Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, Hostetler DE & Barrington GM (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(6): 569–577.

Welfare Quality® (2009). *Welfare Quality® assessment protocol for cattle*. Welfare Quality® Consortium, Lelystad, Netherlands

West JW (2003). Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(6): 2131–2144. rs

Wilson RA, Zolnai A, Rudas P & Frenyo LV (1996). T-Cell subsets in blood and lymphoid tissues obtained from fetal calves, maturing calves, and adult bovine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 53(1): 49–60.