

**Efeito da idade e da suplementação oral com o acetato de DL-alfa-tocoferol sobre os níveis séricos de vitamina E e sobre o metabolismo oxidativo dos neutrófilos em bezerros**

*Effect of age and acetato DL-alfa-tocoferol supplementation on the vitamin E serum levels and on the oxidative neutrophil metabolism of calves*

REIS, M. C.\*, COSTA, J. N., PEIXOTO, A. P. C., FERREIRA, A. F. M. S. C.

\*Médico veterinário- Especialização em Caprinocultura e Ovinocultura. Mestrando pela Escola de Medicina Veterinária da U.F.B.A.

Endereço para correspondência: [marcioreismedvet@ibest.com.br](mailto:marcioreismedvet@ibest.com.br)

**RESUMO**

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da idade e da suplementação oral com acetato de DL-alfa-tocoferol sobre os níveis séricos de vitamina E e sobre o metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bezerros da raça Jersey do nascimento aos 45 dias de idade. Foram utilizados 14 bezerros divididos em dois grupos de sete animais cada. O grupo tratamento recebeu 2g de acetato de DL-alfa-tocoferol, por via oral, diariamente, até os 45 dias de vida e o controle não recebeu nenhum tipo de suplementação para esta vitamina. Foram colhidas amostras de soro sanguíneo ao nascimento, aos cinco, 10, 20, 30 e 45 dias de idade, para: determinação sérica da vitamina E e para a avaliação da função dos neutrófilos. Concluímos que a suplementação oral com acetato de DL-alfa-tocoferol, na dose de 2 g/dia/VO, do nascimento aos 45 dias de idade aumentou significativamente ( $p \leq 0,05$ ) os níveis séricos de vitamina E em bezerros. Os menores percentuais de neutrófilos redutores foram detectados logo após o nascimento e os maiores aos 45 dias de idade. A suplementação com vitamina E não alterou significativamente a função oxidativa dos neutrófilos, mas os valores superiores obtidos para os animais do grupo tratado, para o teste estimulado, sugerem uma ação neutrófilica mais potente diante uma infecção natural nesses animais.

Palavras-chave: bezerros, metabolismo oxidativo, neutrófilos, vitamina E.

**SUMMARY**

The aim of this report was to evaluate the influence of age and oral supplementation with DL-alfa-tocopherol acetate on vitamin E serum levels and on the oxidative metabolism of neutrophils in Jersey calves from birth until 45 days of age. Fourteen calves were divided in two groups of seven animals each. The tested group received orally 2g of DL-alfa-tocopherol acetate per day, from birth until 45 days of life and the control group didn't receive any oral supplementation. Serum blood samples were collected at the birth, 5, 10, 20, 30 and 45 days of age. Vitamin E concentration and neutrophils' function were evaluated using these samples. It was concluded that the oral 2g/d/VO supplementation with DL-alfa-tocopherol acetate, from birth until 45 days of age significantly increased the serum vitamin E levels ( $p \leq 0,05$ ) in calves. The lower percentages of cattle reducer neutrophils were detected soon after the birth and the largest at 45 days of age. The supplementation with vitamin E had no significant changes on the oxidative function of the neutrophils, but the superior values obtained for the treated group using the neutrophil stimulation test, suggests that there is a more potent neutrophil action before a natural infection.

Key words: calves, oxidative metabolism, neutrophils, vitamin E.

## INTRODUÇÃO

No ambiente intra-uterino, o feto encontra-se confortavelmente protegido da maioria dos microorganismos patogênicos, por diversas membranas, pelo útero e pela parede abdominal, além de estar resguardado do sol, chuva e de predadores. Geralmente não apresenta problema nutricional, mas, de repente, as condições se tornam adversas com advento da parição e saída do bezerro para o ambiente hostil, repleto de bactérias, vírus e outros patógenos (ALMEIDA et al., 2001). Somando-se isso à característica morfológica da espécie bovina, que possui uma placenta do tipo sindesmocorial, que não permite uma boa passagem de imunoglobulinas para o feto via placentária, tendo-se então uma elevada taxa de mortalidade neonatal nessa espécie.

Se imaginarmos que possuímos no Brasil o maior rebanho comercial do mundo, estimado em 176 milhões de cabeças (IBGE, 2004), com um total de aproximadamente 72 milhões de fêmeas em idade reprodutiva, nascendo anualmente quase 44 milhões de bezerros (ANUALPEC, 2003), podemos refletir sobre o imenso prejuízo econômico que essa mortalidade neonatal provoca em nosso país.

A vitamina E é o mais potente antioxidante biológico, importante na defesa de células e tecidos (PASCHOAL et al., 2003) e a suplementação em doses acima do recomendado na dieta pode aumentar a resposta humoral e celular (MEYDANY e HAYEK 1997). Essa vitamina não ultrapassa a placenta em quantidades apreciáveis e o conteúdo no colostro é freqüentemente abaixo do que os neonatos necessitam durante os primeiros dias de vida (WEISS et al., 1992; QUIGLEY e DREWRY 1998).

Os neutrófilos são as principais células de defesa do sistema imune, presentes na circulação sanguínea e interior de tecidos, porém formados na medula óssea. Seu tempo estimado de vida é pequeno, de poucos dias, e constituem cerca de 60 a 75% dos leucócitos sanguíneos nos carnívoros e, de 20 a 35%, nos ruminantes. As funções dos neutrófilos no sistema imune celular são a captura e a destruição do material estranho através da fagocitose. Essa função é dividida em quatro estágios: a quimiotaxia, que é uma migração direcionada para dentro dos tecidos; aderência e opsonização, uma vez que o neutrófilo encontra uma partícula estranha deve-se ligar a ela para realizar a fagocitose, porém isso só ocorre após a neutralização da carga negativa presente na partícula estranha através de um revestimento de anticorpos ou proteína C3b; ingestão, uma vez ligada à superfície neutrofílica, a partícula é empurrada para o interior da célula onde o fagossomo a engloba; destruição que ocorre por meio de dois mecanismos distintos, a explosão respiratória e a digestão por enzimas lisossomais (TIZARD, 2000).

Os neutrófilos, quando estimulados a realizarem sua atividade bactericida, manifestam um aumento do consumo de oxigênio denominado de “explosão respiratória” que origina uma enorme quantidade de superóxido e peróxidos de hidrogênio, dos quais derivam os metabólitos oxidantes. Essa explosão respiratória é iniciada pela ativação da enzima Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (NADPH), e nos neutrófilos não estimulados, essa enzima encontra-se em repouso. A enzima NADPH-Oxidase penetra no vacúolo fagocítico e catalisa a redução do oxigênio molecular (O<sub>2</sub>), formando superóxido aniônico (MAUG, 1973). O superóxido formado sofre a dismutação pela ação do superóxido dismutase e origina o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). O NBT, teste da redução do Nitroblue Tetrazolium,

corresponde a uma excelente alternativa para testar a função oxidativa dos neutrófilos. A positividade do teste do NBT é indicativa da capacidade bactericida celular, e esse teste é dividido em prova não estimulada e estimulada, essa última baseada no estímulo gerado pela incubação de neutrófilos, com extrato bacteriano liofilizado, o que induz a uma maior produção de superóxido aniônico, na membrana celular (BAEHNER et al., 1976).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 14 bezerros machos da raça Jersey, que após o nascimento e ingestão do colostro por dois dias (quatro litros/ dia) foram transportados da Fazenda Vila Rial – Cachoeira – BA, para as instalações do Centro de Desenvolvimento da Pecuária – CDP – EMV – UFBA, localizado em Oliveira dos Campinhos – Santo Amaro – BA. Em seguida, os mesmos foram alocados em baias individualizadas, onde passaram a receber quatro litros de leite/dia, feno e ração granulada à vontade.

### Local de execução da pesquisa

A parte de campo foi realizada nas instalações do Centro de Desenvolvimento da Pecuária – CDP – Escola de Medicina Veterinária – UFBA. Os exames laboratoriais no laboratório do CDP – EMV – UFBA, no laboratório de Doenças Parasitárias da EMV – UFBA e no laboratório de nutrição da Faculdade de Medicina – UNESP – Botucatu – SP.

No Brasil existem poucas pesquisas que relacionem a suplementação oral, com vitamina E, com a evolução da imunidade celular e humoral e a incidência de doenças em bezerros. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da idade e da suplementação, com o acetato DL-alfa-tocoferol, sobre os níveis séricos de vitamina E e sobre o metabolismo oxidativo dos neutrófilos, em bezerros da Raça Jersey do nascimento até 45 dias de idade.

### Delineamento Experimental

Os animais, após a chegada no CDP – EMV – UFBA, foram subdivididos em dois grupos, com sete animais cada, representando o grupo controle e o grupo tratamento. Os animais do grupo tratamento foram suplementados com dois gramas de vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol), por via oral, diariamente, até 45 dias de vida. O grupo controle não recebeu nenhuma suplementação para essa vitamina. Foram colhidas amostras de sangue total e de soro sanguíneo, para a determinação laboratorial do teste de função dos neutrófilos e da vitamina E sérica, ao nascimento, aos 5, 10, 20, 30 e 45 dias de vida.

### Exames laboratoriais

Para a avaliação da função oxidativa dos neutrófilos, foi utilizado o teste da redução do Nitroblue Tetrazólium (NBT), prova estimulada e não estimulada, método microscópico de Park e Good (1970) modificado por Ciarlini (1998), utilizando-se o material da **Sigma Diagnostic**. A vitamina E sérica foi determinada por cromatografia líquida de Alta Performance (HPLC), seguindo-se as recomendações de Arnaud et al. (1991).

### Análise estatística

Foi utilizada a Análise de Perfil (Profile Analysis- Morrison, 1990), com comparação dos pares de médias, para cada grupo de animais ao longo do tempo (nascimento, 5, 10, 20, 30 e 45 dias de idade). Foi também analisada, através de intervalos de confiança específicos, a comparação da média dos grupos, em cada fase do experimento.

O teste de Bonferoni também foi utilizado para verificar a diferença entre os estágios de cada grupo. O nível de significância foi de 5% de probabilidade para todas análises estatísticas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se um software estatístico (SPSS, 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

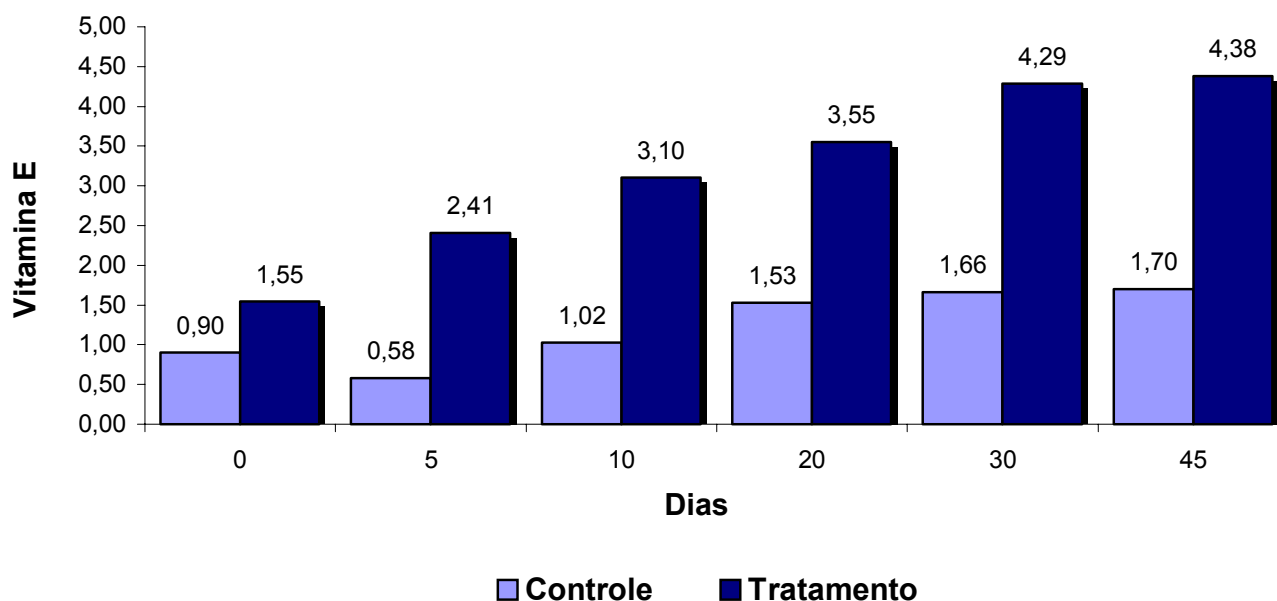
Vitamina E de bezerros da raça Jersey - influência da idade e da suplementação com vitamina E.

Tabela 1-Valores médios e desvio padrão das concentrações de Vitamina E (Alfa- Tocoferol-expressos em µg/mL) do soro sanguíneo de bezerros Jersey, tratados (tratamento) e não tratados (controle), com acetato de DL-Alfa-Tocoferol ao nascimento, aos 5, 10, 20, 30 e 45 dias de idade.

Momentos (dias)	Tratamento	Controle
Nascimento	1,55±1,24aA	0,90±0,78aA
5	2,41±1,85aA	0,58±0,57bA
10	3,10±1,36aA	1,02±0,86bA
20	3,55±1,40aA	1,53±0,87bA
30	4,29±1,73aB	1,66±0,80bA
45	4,38±1,57aB	1,70±0,81bA

Letras minúsculas comparam grupos em cada fase; letras maiúsculas comparam fases para o grupo. Letras iguais indicam diferença não significativa ( $p > 0,05$ ).

Figura 1- Valores médios da concentração de vitamina E (expressos em  $\mu\text{g/mL}$ ) do soro sanguíneo de bezerros da raça Jersey, tratados e não tratados com Acetato de DL-alfa-tocoferol, ao nascimento, aos 5, 10, 20, 30 e 45 dias de idade.



Não foi observada diferença significativa, durante o desenvolvimento etário, na concentração da vitamina E no soro sanguíneo dos bezerros do grupo controle.

O valor mínimo da concentração da vitamina E, apresentado pelos bezerros, nessa pesquisa, logo após o nascimento até os cinco dias de vida, concorda com a observação realizada por Costa (2001), e pode ser explicado pelo fato da vitamina E não ultrapassar a placenta em quantidades que possam suprir as necessidades dos recém-nascidos. Esse fato também foi observado por Bass et al. (2001), que trabalhando com vacas suplementadas com vitamina E, próximas ao parto, não observaram alterações nas concentrações séricas dos bezerros dessas vacas. Hidiroglou et al. (1994), também não observaram uma passagem adequada de vitamina E de vacas suplementadas com esta vitamina, antes do parto, para seus bezerros ao nascimento. Chawla e

Kaur (2004), também estão de acordo que a suplementação com vitamina E anterior ao parto melhora o *status* imunológico das vacas, porém, não o de seus descendentes.

O aumento pequeno, não significativo, da concentração de vitamina E, a partir do quinto dia de vida até os 45 dias de idade, observado neste trabalho, no grupo controle, não está de acordo com as observações de Hidiroglou et al. (1992), que observaram um decréscimo até a oitava semana de vida em bezerros, explicado pelo autor pelo tipo de alimentação desses animais que foram alimentados na maioria das vezes por sucedâneos do leite. Sabe-se que, em alimentos estocados, o teor da vitamina E é muito baixo. Outro fato importante foi o observado por Zanker et al. (2000) que concluíram que bezerros que retardaram a ingestão de colostro por mais de 12 horas após o nascimento apresentaram menor concentração sérica de vitamina E, no primeiro mês de vida. Fatos esses que não aconteceram com os animais dessa pesquisa, alimentados com colostro, logo após o nascimento e com leite

natural das vacas, nos dias seguintes e capim fresco e ração comercial contendo vitaminas.

Neste trabalho os baixos valores séricos obtidos para vitamina até os dez dias de idade, são inferiores aos obtidos por Eicher-Pruiett et al. (1992) e Costa (2001), para bezerros da mesma idade, sugerindo a necessidade da suplementação com vitamina E em bezerros, nos primeiros dias de vida, principalmente por sabermos que concentrações inferiores a 1,1 µg/mL podem desencadear um quadro de deficiência (RADOSTITIS et al. 2000).

No grupo tratado com Vitamina E foi observada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), entre as fases, a partir de 30 dias de idade. Ao nascimento encontramos o menor valor para a concentração de vitamina E sérica (1,55 µg/mL), sofrendo um aumento não significativo até os 20 dias de idade (3,55 µg/mL), para, a

seguir, apresentar elevações significativas ( $p \leq 0,05$ ) aos 30 (4,29 µg/mL) e aos 45 (4,38 µg/mL) dias de vida, quando é atingido o valor máximo da vitamina no experimento.

A diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) na concentração de vitamina E sérica, entre os grupos, só foi observada a partir do segundo estágio (cinco dias de vida), pois, no primeiro (ao nascimento), não houve diferença significativa. Comprova-se, portanto, a eficiência da suplementação oral com vitamina E que nesse trabalho começou a ser realizada com 48 horas após o nascimento dos bezerros. Esses resultados estão de acordo com as observações realizadas por Rivera et al. (2002). As concentrações médias séricas de vitamina E encontradas foram superiores às encontradas por Reddy et al. (1987) e Costa (2001) e. Isso pode ser explicado pelo fato de termos optado pela suplementação oral diária em elevadas doses, enquanto os referidos autores utilizaram a via intramuscular em intervalos semanais.

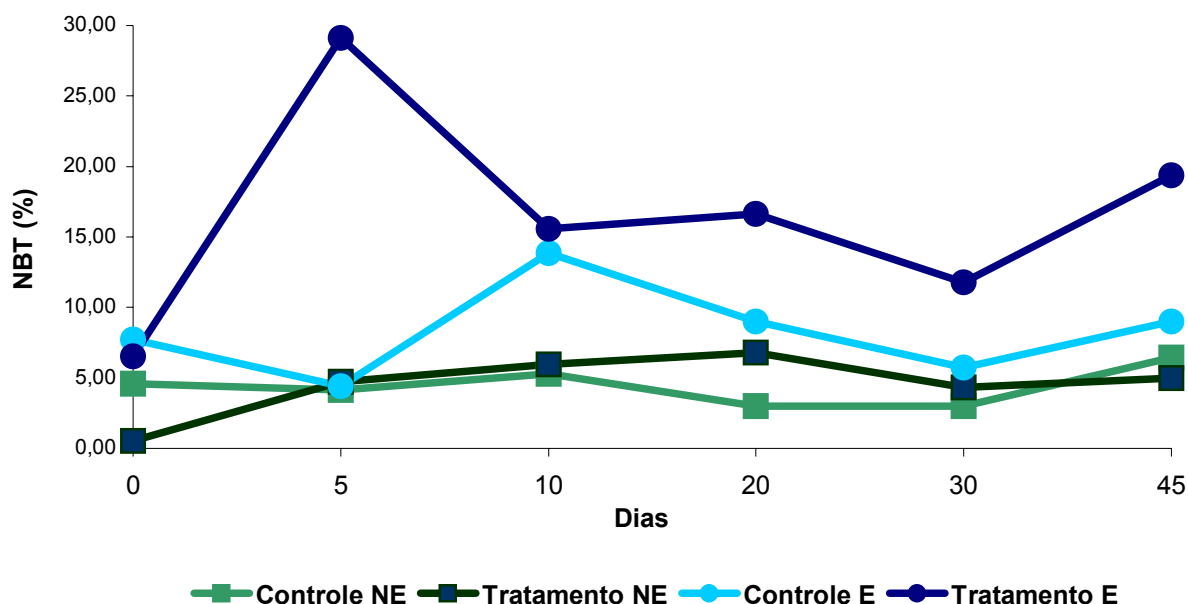
### **Função de Neutrófilos em Bezerros da Raça Jersey- Influência da Idade e da suplementação com o acetato DL-alfa-tocoferol.**

Tabela 2- Valores médios obtidos no teste da função dos neutrófilos, expresso em percentual de neutrófilos redutores ao Nitroblue Tetrazolium na prova estimulada (NBT-E) e não estimulada (NBT-NE), em bezerros da raça Jersey não suplementados e suplementados com o acetato de DL-Alfa-Tocoferol ao nascimento, aos 5, 10, 20, 30 e 45 dias de idade.

Momentos (dias)	Grupo controle (%)		Grupo tratamento (%)	
	NBT- E	NBT-NE	NBT-E	NBT-NE
Nascimento	7,7aA	4,6aA	5,9aA	0,5aA
Cinco	4,4aA	4,1aA	18,7aA	3,5aA
Dez	13,9aB	5,3aA	17,3aA	7,3aB
20	9,0aB	3,0aA	13,4aA	5,7aB
30	5,7aB	3,0aA	9,3aA	3,9aB
45	9,0aB	6,4aA	20,9aA	6,9aC

Letras minúsculas comparam grupos em cada fase; letras maiúsculas comparam fases para o grupo; letras iguais indicam diferença não significativa ( $p > 0,05$ ).

Figura 2- Valores médios obtidos no teste da função dos neutrófilos, expressos em percentual (%) de neutrófilos redutores do Nitroblue Tetrazolium, na prova estimulada (NBT-E) e não estimulada (NBT-NE), em bezerros da raça Jersey não tratados e tratados com o acetato de DL-Alfa-Tocoferol ao nascimento, aos 5, 10, 20, 30 e 45 dias de idade.



A função dos neutrófilos dos bezerros do grupo controle determinada pelo percentual médio de células redutoras do NBT, na prova não estimulada, sofreu pequenas modificações durante o período estudado. Ao nascimento, apresentou-se valor médio de (4,6%), caindo aos cinco dias para (4,1%), elevando-se aos dez dias (5,3%), caindo novamente aos 20 e 30 dias de idade (3%), onde foi revelado o menor valor percentual de neutrófilos redutores, havendo, em seguida, um novo aumento aos 45 dias de idade (6,4%). Na prova estimulada para o mesmo grupo observaram-se variações durante o desenvolvimento etário. Ao nascimento o valor médio foi de (7,7%), sofrendo uma pequena queda aos cinco dias de vida (4,4%), onde se observou o menor valor médio, ocorrendo um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) aos dez dias de idade (13,9%), para uma nova queda aos 20 dias de vida (9%) e aos 30 dias (5,7%),

tendo sido observada uma pequena elevação no seu valor médio, aos 45 dias de idade (9%). Observando a prova do NBT, verificamos um valor de neutrófilos redutores muito baixo (3 a 6,4%), estando de acordo com Lee e Kehrl (1998) e Costa (2001) e, que também observaram diminutos valores nas provas funcionais de neutrófilos em bezerros nessa faixa etária. Tais valores baixos mostram a pouca eficiência do importante mecanismo de defesa celular em bezerros jovens. Hauser et al. (1986) e Doré et al. (1990) observaram, além de falhas no metabolismo oxidativo, ação bactericida e atividade migratória deficientes nos neutrófilos de animais jovens. Uma justificativa para a diminuição do metabolismo oxidativo desses neutrófilos em animais jovens é concedida por Lee e Kerhly (1998), quando demonstraram que neutrófilos de animais jovens apresentavam reduzida quantidade das moléculas de adesão (CD18 e CD62L), o que dificulta a adesão e migração leucocitária.

O percentual médio de neutrófilos reagentes do NBT, para prova estimulada no grupo controle, foi um pouco superior ao encontrado para o mesmo grupo na prova não estimulada, porém, com o mesmo comportamento de mudanças de valores durante o tempo. Esses resultados estão de acordo com Ciarlini (1997) e Costa (2001). Nessa prova, os neutrófilos são desafiados quando são colocados à presença de um extrato bacteriano, portanto, se espera que os valores sejam superiores aos encontrados na prova não estimulada.

O menor valor médio percentual para prova não estimulada do NBT, do grupo tratado com vitamina E, foi observado ao nascimento (0,5%), havendo uma pequena elevação aos cinco dias de vida (3,5%) e, posteriormente, um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) aos dez dias, em que houve o maior valor de redução do NBT (7,3%), acompanhado de posterior queda até os 30 dias de idade (3,9%), voltando a sofrer uma elevação significativa ( $p \leq 0,05$ ) aos 45 dias de vida (6,9%).

Analisando os dois grupos estudados, podemos afirmar que não houve influência significativa do tratamento com vitamina E. Apesar dos valores de redução do NBT serem sempre superiores no grupo tratamento, principalmente, na prova estimulada, esses não são significativamente diferentes daqueles

encontrados no grupo controle. Essa ausência de influência da vitamina E está de acordo com Hidiroglou et al. (1995) e Costa (2001).

A suplementação com vitamina E não alterou significativamente a função oxidativa dos neutrófilos, mas os valores superiores obtidos nos animais do grupo tratado, com o teste estimulado, sugerem uma ação neutrofílica mais potente frente a uma infecção natural nesses animais.

## CONCLUSÃO

Os bezerros da raça Jersey entre o nascimento e os primeiros vinte dias de vida, apresentaram valores séricos de vitamina E muito baixos, o que sugere a necessidade de suplementação dessa vitamina na dieta do recém-nascido.

A suplementação com acetato de DL-alfa-tocoferol, na dose de dois gramas diários, utilizada por via oral, foi eficiente para elevar o valor sérico da vitamina E.

O metabolismo oxidativo dos neutrófilos dos bezerros estudados se apresentou muito baixo nos primeiros dias de vida, podendo torna-los susceptíveis às infecções.

A suplementação com vitamina E não alterou significativamente a função oxidativa dos neutrófilos, mas os valores superiores obtidos a partir dos animais do grupo tratado, no teste estimulado, sugerem uma ação neutrofílica mais potente frente a uma infecção natural.



## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C.F.; BORGES, N.C.; DIAS FILHO, F.C.; MORAES, R.R. Manejo da parturiente e do recém nascido. In: SILVA, L.A.F. **Sanidade dos bezerros leiteiros**. Goiânia: Talento, 2001. p. 9-13.
- ANUALPEC. Anuário da pecuária brasileira São Paulo, Argos Comunicação, 2003. 400p.
- ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, D.; FAVIER, D. Simultaneous determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 572, p.103-16, 1991.
- BAEHNER, R. L.; BOXER, L. A.; DAVIS, J. The biochemical basis of nitroblue tetrazolium reduction in normal human and chronic granulomatous disease polymorphonuclear leukocytes. **Blood**, v. 48, p. 309-13, 1976.
- BASS I.I. R. T.; SWECKER JR., W. S.; EVERSOLE, D. E. Effects of oral vitamin E supplementation during late gestation in beef cattle that calved in late winter and late summer. **AJVR**, v. 62, n. 6, p. 921- 927, 2001.
- CHAWLA, R.; KAUR, H. Plasma antioxidant vitamin status of periparturient cows supplemented with  $\alpha$ -tocopherol and beta-carotene. **Animal Feed Science and Technology**. v. 114, p. 279-285, 2004.
- CIARLINI, P.C.; BARROS, P.C.; LOPES, C.M.Q.; KOHAYAGAWA, A.; KRAUSE, A.; LAPOSY, C.B. Leucograma, fibrinogênio plasmático e capacidade bactericida dos neutrófilos de éguas susceptíveis e resistentes à endometrites. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 21, p.123-6, 1997.
- CIARLINI, P. C. Leucograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos em ovelhas (*Ovis aries*, LINNAEUS, 1758) naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais ao final da gestação, durante a lactação e após o desmame: influências de fatores raciais e hormonais. 1998. 204 f. Tese. (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu.
- COSTA, J.N. **Leucograma, metabolismo oxidativo dos neutrófilos, proteinograma e imunoglobulinas de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*):** influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de DL- $\alpha$ -tocoferol). Botucatu, 2001. 192 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu.
- DORÉ, M.; SLAUSON, D.O.; NEILSEN, N. R. Membrane NADPH Oxidase activity and cell size in bovine neonatal and adult neutrophils. **Pediatr. Res.**, v. 28, p. 327-31, 1990.
- EICHER-PRUIETT, S.D.; MORRIL, J.L.; BLECHA, F.; HIGGINS, J.J.; ANDERSON, N.V.; REDDY, P.G. Neutrophil and lymphocyte response to supplementation with vitamins c and e in young calves. **J. Dairy Sci.**, v.75, p. 1635-42, 1992.
- HAUSER, M. A.; KOOB, B.S.; JAMES, A. R. Variation of neutrophil function with age in calves. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, p. 152-3, 1986.
- HIDIROGLOU, M. Possible roles of vitamin E in immune response of calves. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, v. 62, p. 308-11, 1992.

HIDIROGLOU, M.; BATRA, T.R.; ROY, G. L. Changes in plasma alpha-tocopherol and selenium production in dairy cows and on passive immunity and growth of their offspring cow fed hay or silage. **J. Anim. Sci.**, v.78, p. 190-5, 1994.

HIDIROGLOU, M.; BATRA, T.R.; IVAN, M. Effects of supplemental Vitamins E and C on the immune responses of calves. **J. Dairy Sci.**, v. 78, p. 1578-83, 1995.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>>. Acesso em: 15.07.2004.

LEE, E., KEHRLI, M.E. Expression of adhesion molecules on neutrophils of periparturient cows and neonatal calves. **Am J. Vet. Res.**, v. 59, p. 37-43, 1998.

MAUG, J.H. Singlet oxygen: a unique microbicidal agent in cells. **Science**, v. 182, p. 44, 1973.

MEYDANI, S.N., HAYEK, M. G. Vitamin E and the aging immune response. In: ANIMAL VETERINARY MEDICAL FORUM, 15, 1997, Florida: **Proceedings ...** Florida American College of Veterinary, 1997. p. 114-5.

PARK, B.H.; GOOD, R.A. N.B.T. test stimulated. **Lancet**, v.19, p.616, 1970.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A.; CUNHA, J. A. Suplementação de selênio e vitamina E sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça holandesa. **R. Bras. Zootec.**, v. 32, n. 6, p. 2032- 2039, 2003.

QUIGLEY, J. D., DREWRY, J. J. Symposium: practical considerations of transition cow and calf management. **J. Dairy Sci.**, v. 81, p. 2779-90, 1998.

RADOSTITIS, M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. **Veterinary medicine: a textbook of the disease of cattle, sheep, pigs and horses.** Londres : Saunders Company. 2000. 1877 p.

REDDY, P. G.; MORRIL, J. L.; MINOCHA, H. C.; STEVENSON, J. S. Vitamin E is immunostimulatory in calves. **J. Dairy Sci.**, v.70, p. 993-9, 1987.

RIVERA, J.D.; DUFF, G.C.; GALYEAN, M.L.; WALKER, D.A.; NUNNERY, G.A. Effects of supplemental vitamin E on performance, health, and humoral immune response of beef cattle. **J. Anim. Sci.**, n. 80, p. 933-41, 2002.

SPSS Inc. **SPSS Base 11.0 User's Guide.** Chicago, 2001.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction.** 6 ed. London: Saunders Company, 2000. 482p.

WEISS, W. P.; HOGAN, J. S.; SMITH, K. L.; TODHUNTER, D. A. Effect of supplementing periparturient cows with vitamin E on distribution of Alfa-tocopherol in blood. **J. Dairy Sci.**, v. 75, p. 3479-85, 1992.

ZANKER, I. A.; HAMMON, H. M.; BLUM, J. W. Beta-carotene, retinal and alpha-tocopherol status in calves fed the first colostrums at 0-2, 6-7, 12-13, or 24-25 hours after birth. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.** v. 70, n. 6, p. 305- 310, 2000.