

NÍVEIS DAS PROTEÍNAS SÉRICAS DO TERNEIRO APÓS ATIVAÇÃO IMUNOGÊNICA DA VACA ANTES DO PARTO.*

Serum protein levels of the calf after immunogenic activity of the cow, before parturition.

Plínio Assis Peres Nogueira** e Cezar Marques Santiago***

RESUMO

Para verificar a influência da ativação imunogênica em vacas gestantes sobre os níveis de concentração das frações protéicas no soro de terneiros, foram utilizadas 51 fêmeas com idade entre 5 e 7 anos separadas aleatoriamente de um rebanho de 300 animais, que constituíram 3 grupos:

- G1 - 25 vacas gestantes - sem tratamento (testemunhas);
- G2 - 13 vacas gestantes - tratadas com culturas de *Pasteurella bovis* e *Salmonella enteritidis* inativadas pelo formol;
- G3 - 13 vacas gestantes - tratadas com imunoglobulinas de soro sanguíneo de bovinos saudáveis.

Estudou-se a variação dos níveis de concentração de proteína total, albumina e das frações alfa, beta e gamaglobulinas no soro dos terneiros entre 40 e 48 horas após o nascimento.

Comprovou-se que a ativação imunogênica da mãe confere ao terneiro um aumento significativo nos níveis de concentração sérica da gamaglobulina. A albumina e as frações globulínicas alfa e beta não apresentaram diferenças significativas.

SUMMARY

In this experiment was used 51 adult cows randomly separated among 300 animals in order to verify the influence of the immunogenic activation of pregnant cows in the concentration levels of serum proteic fraction in calf.

These animals were separated in 3 groups:

- G1 - Twenty-five pregnant cows - control;
- G2 - Thirteen pregnant cows - treated with culture of *Pasteurella bovis* and *Salmonella enteritidis* inactivated by formol;
- G3 - Thirteen pregnant cows - treated with serum immunoglobulins from healthy cattle.

* Parte da Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa Maria, como um dos requisitos do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

** Médico Veterinário - Cap. Vet. - Cedido ao MEC, prestando serviço à UFSM-CCR, Departamento de Clínica de Grandes Animais.

*** Professor Adjunto - UFSM - CCR - Departamento de Clínica de Grandes Animais.

The variation levels of total protein concentration, albumin and alfa, beta and gammaglobulins in the calf serum collected between 40 and 48 hours post-partum were studied.

The immunogenic activation of the cow gave to the calf a significant increase in the concentration levels of serum gammaglobulin. The fraction alfa, beta and albumin did not show significant levels in the 3 treatments used.

INTRODUÇÃO

Os criadores do Rio Grande do Sul, embora a progressiva aceitação de aconselháveis medidas higiênicas e alimentares dos animais, admitem relativo número de perdas em terneiros nas três primeiras semanas de vida.

A pneumonia e as infecções gastrointestinais dos recém-nascidos, segundo OXENDER et alii (31), são responsáveis por 41 e 70% das mortes nas três primeiras semanas de vida, período considerado crítico por McLEAN et alii (29). Os terneiros nascem hipo ou agammaglobulinêmicos (15, 36, 35, 46, 17) e, consequentemente, dependentes do colostro para a obtenção de imunidade passiva (12) local a nível intestinal (22, 34, 26, 25, 8), bem como sistêmica a nível de soro sanguíneo (43, 5, 22, 31) determinante de seu potencial de sobrevivência nas três primeiras semanas de vida (29, 12).

Após três dias, a fração gamaglobulina virtualmente desaparece do colostro (7), permanecendo, contudo, como constituinte de outras secreções orgânicas da vaca (39) e, segundo DIXON et alii (9) e PIERCE & FEINSTEIN (36), após ter atingido 4 a 5 vezes a concentração encontrada no soro sanguíneo durante o período de síntese do colostro. A permanência do terneiro junto da vaca, sob sua influência maternal, permite um regular e suficiente aporte de colostro (41), motivador de um estado imunológico satisfatório e indispensável.

Os recém-nascidos adquirem passivamente anticorpos específicos através do colostro e este fornecimento depende diretamente de fatores maternos como saúde geral, estado nutricional, produção láctea, instinto maternal ou fatores individuais do terneiro como o "fechamento intestinal" precoce para a absorção de macromoléculas, descrito por PENHALE et alii (32) que pode ainda ser causado pela quantidade de bactérias presentes no aparelho digestivo e à infestação maciça de endoparasitos (10, 39).

Depreende-se, do exposto, que um manejo alimentar e sanitário acertado é de grande valia na busca de condições imunológicas necessárias ao terneiro, mas não o único.

Baseado no conceito anterior, aceitando um adequado manejo alimentar e sanitário fornecido pela maioria dos criadores riograndenses e conhecendo a inviabilidade de antibioticoterapia de massa no regime criatório extensivo, procurou-se um meio prático, barato, eficiente e viável para aumentar, no terneiro, os níveis séricos de gamaglobulina, mediante a ativação do sistema imunogênico da vaca, através da aplicação de fármacos comerciais e, também, observar varia-

ções porventura produzidas nos níveis da albumina e demais frações globulínicas (alfa e beta), visto que estes elementos são absorvidos de forma eficiente pelo animal, nas primeiras horas de vida (1, 28, 40, 6, 32, 11).

REVISÃO DA LITERATURA

O colostro é uma combinação de anticorpos e nutrientes (19) e as suas frações globulinas (lactoglobulinas) absorvidas de forma ativa (1, 2) são responsáveis pelo aporte de imunidade passiva aos recém-nascidos (13, 12, 21, 30). A fração gamaglobulina, tida como portadora de anticorpos, é relatada por PENHALE et alii (33) como conjunto de imunoglobulinas da fração sérica dotada de origem comum, estrutura própria e atividade imunológica.

Segundo PENHALE et alii (33), as IgA, IgG e IgM são absorvidas em tempo definido; a IgM tem sua absorção dentro das primeiras 16 horas; a IgA até 22 horas, e, finalmente, a IgG é absorvida até 27 horas de vida. Selman, (apud McEWAN et alii (28); SELMAN et alii (40); BUSH et alii (6); LOGAN et alii (21) e PENHALE et alii (32) relatam uma sensível elevação de gamaglobulina nos soros dos terneiros nas primeiras 12 a 48 horas de vida e MCCOY et alii (27) e LaMOTTE (20), consideram um nível máximo entre 31 e 48 horas, decrescendo linearmente até o 20º dia (45, 21, 23). WARD-COX (46) afirmou que com 96 horas de vida os níveis de concentração encontrados nos soros dos terneiros são semelhantes aos níveis dos animais adultos, desde que amamentados "ad libitum" nas primeiras horas de vida, segundo as observações de BOYD (3) e BOYD et alii (4).

Muitos autores enfatizam a necessidade da urgência do primeiro aleitamento e citam como fator capaz de depreciar os níveis ideais de concentração de gamaglobulina no soro do terneiro (14, 42, 19, 40, 26, 38).

As literaturas nacional e estrangeira compulsadas relatam a importância da fração gamaglobulina através de suas classes (IgA, IgG, IgM) para a higidez do terneiro nas primeiras semanas de vida, contudo não foi encontrada referência à característica do trabalho ora proposto.

Pesquisadores de diferentes países buscam meios para um maior aporte de anticorpos aos recém-nascidos (47, 11, 27, 29).

As literaturas nacional e estrangeira citam níveis para proteína total, albumina e as frações alfa (1 e 2), beta e gamaglobulina nos soros dos terneiros de forma individual (6, 16, 20, 21, 24, 27, 30, 35, 39, 44, 45), Tabela 1.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 51 vacas com idade entre 5 e 7 anos, separadas ao acaso de um rebanho de 300 animais, submetidas à cobertura no período entre 19 de novembro de 1978 e 10 de março do ano seguinte, tendo constituído três grupos:

Grupo I- 25 vacas gestantes sem tratamento (testemunhas) - G1

TABELA 1. Limites inferior e superior da variação dos níveis de concentração da proteína total, albumina e as frações alfa (1 e 2), beta e gamaglobulina nos soros de terneiros.

Proteína total	Albumina	Globulinas (g/100 ml)		
		Alfa (1 e 2)	Beta	Gama
4,63	3,78	1,35	1,12	0,17
a	a	a	a	a
7,95	2,31	1,02	1,15	8,38

Grupo II - 13 vacas gestantes tratadas com culturas de *Pasteurella bovis* e *Salmonella enteritidis*, inativadas pelo formol*, na dose de 3 ml, por via subcutânea - G2.

Grupo III - 13 vacas gestantes tratadas com Imunoglobulina bovina normal, extraída do soro sanguíneo de bovinos sadios**, na dose de 50 ml, por via subcutânea - G3.

Os volumes e a via de aplicação foram indicados pelos fabricantes dos produtos. Os animais tratados receberam os fármacos entre 18 e 20 dias antes do parto.

Os componentes dos tres grupos permaneceram em campo nativo, junto ao restante do rebanho, nas mesmas condições alimentares e higiênicas, até a colheita do material, objeto de análise laboratorial.

Entre 40 a 48 horas após o nascimento, coletaram-se 5 ml de sangue da veia jugular dos terneiros considerados sadios. Os soros após centrifugação foram estocados entre 0 e 29°C.

No laboratório, após descongelamento à temperatura de 24 a 27°C, procedeu-se a dosagem das proteínas totais dos soros pelo método de Biureto***, o fracionamento eletroforético em fita de acetato de celulose gelatinizada**** e leitura em Densitômetro*****.

Aplicou-se a análise de variância nos valores dos níveis de concentração de proteína total, albumina e das demais frações globulínicas (alfa, beta e gama) dos soros dos terneiros. Para a apreciação das diferenças entre as médias foi usado o método de "DUNCAN", ao nível de 1% de significância e um cálculo de correlação entre as frações globulínicas e a albumina.

* Vacina Manguinhos Ltda. RJ.

** Bio-Gama - Laboratório Bio-Vet Ltda. SP.

*** Proteína total (Biureto) - Labtest Sistemas Diagnósticos Ltda.

**** Gellogel - Empresa Médica Importação e Comércio Ltda. RJ.

***** Densitômetro - Cosmo Densitometer - Super Check Model D-101.

RESULTADOS

Os níveis médios de concentração de proteínas totais, albumina e das frações alfa, beta e gamaglobulinas nos soros dos terneiros, ao atingirem 40 a 48 horas de vida, estão no Gráfico 1 e na Tabela 2, junto aos níveis de significância encontrados na comparação das médias observadas nos três grupos (G1, G2 e G3).

A análise de variância, médias, intervalos de confiança e coeficientes de variação para a proteína total estão nas Tabelas 3 e 4.

A análise de variância, médias, intervalos de confiança, coeficientes de variação e comparação das médias para a gamaglobulina estão nas Tabelas 5, 6 e 7. A análise de variância dos níveis de concentração sérica das proteínas totais, albumina e das frações globulínicas alfa e beta não mostrou diferença significativa para os tres grupos. No teste das médias, observou-se que, entre G1 e G2 e também G1 e G3, houve diferença significativa ao nível de 1%, porém entre G2 e G3, não houve diferença significativa.

Foi encontrada uma correlação positiva entre as frações séricas beta e gamaglobulina ($r = 0,4836$), levando-se a considerar que 23,4% da variação de gamaglobulina estão associados à variação da betaglobulina.

DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho é corroborado por WATT (47), McLEAN et alii (29), ROY & TERNOUTH (39) e RADOSTIST (38), quando citam pesquisas em diferentes países, buscando meios de aumentar o aporte de elementos capazes de propiciar, de forma passiva, resistência aos terneiros recém-nascidos dentro do período crítico.

A presente pesquisa caracterizou que mediante o uso de fármacos comerciais nas mães, houve um aumento nos níveis de concentração de gamaglobulina, estatisticamente significativo, nos soros sanguíneos dos terneiros.

Os níveis de concentração de albumina e frações séricas alfa, beta e gamaglobulinas no grupo testemunha, encontrados nesta pesquisa, permitem concordar com os achados de PENHALE et alii (33), SMITH et alii (42) e FOLEY & OTTERBY (12).

Os níveis de concentração, estatisticamente significante da fração gamaglobulina nos soros dos animais pesquisados, resultantes da absorção do colostro (11), no limite entre 40 e 48 horas de vida, concordam com as afirmações de BALFOUR & COMLINE (2), BAINTRNER & VERESS (1), SELMAN et alii (40), BUSH et alii (6), PENHALE et alii (32) e LOGAN et alii (21).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a albumina e a alfa globulina, embora o nível médio de concentração da albumina igual a 2,71 g/100 ml fosse superior aos encontrados por MCCOY et alii (27) e por STAPLES et alii (44), contudo dentro dos limites aqui estabelecidos com os índices citados pela literatura compulsada.

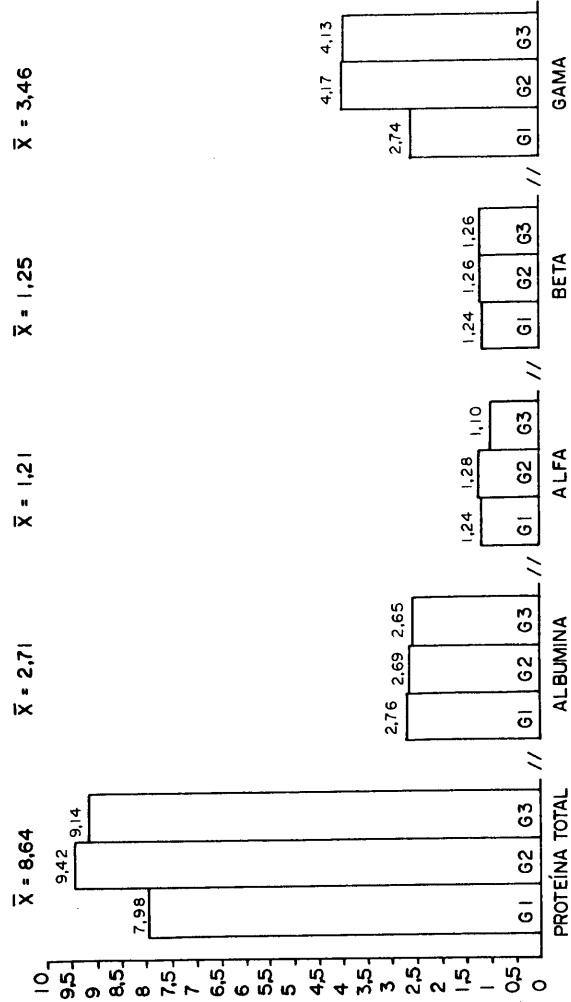


GRÁFICO 1. Níveis médios e médias totais das concentrações de proteína total, albumina e das frações globulínicas alfa, beta e gama, encontradas nos soros dos terneiros nos três grupos - G1, G2 e G3 (g/100 ml).

TABELA 2. Médias e níveis de significância encontrados nos três tratamentos para proteína total, albumina e frações globulínicas alfa, beta e gama dos soros dos terneiros.

Nº	Tratamentos	Grupos	Proteína total	Globulínicas		
				Albumina	Beta	Gama
01	Testemunha	G1	7,9876	2,7612	1,2420	2,7440
02	Culturas de pasteurilla e salmoneilla	G2	9,4200*	2,6938	1,2869	4,1754**
03	Imunoglobulina	G3	9,1446	2,6546	1,1046	4,1362**
Nível de significância do Teste-F			0,0669	1,0000	1,0000	0,0036

* Significativo A $P < 0,05$

** Significativo A $P < 0,01$

TABELA 3. Análise de variância para os níveis de concentração de proteína total (g/100 ml).

Causas de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F	Nível de Significância
Tratamentos	2	21,8571	.286	2,836	0,0669783
Resíduo	48	184,9842	3,8538		
TOTAL	50	206,8413			

TABELA 4. Médias, intervalos de confiança a 95% e coeficientes de variação dos níveis médios de concentração de proteínas totais nos soros dos terneiros (g/100 ml).

Nº	Tratamentos	Número de repetições	Médias e Int. Conf.	Coeficiente de variação
01	Testemunha G1	25	7,9876 ± 0,8057	24,44
02	Culturas de Pasteurellas e Salmonellas G2	13	9,4200 ± 1,3771	24,20
03	Imunoglobulinas G3	13	9,1446 ± 0,9735	17,62

TABELA 5. Análise de variância para os níveis de concentração sérica de gamaglobulina nos três grupos (g/100 ml) e níveis de significância no Teste-F.

Causas de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F	Nível de Significância
Tratamentos	2	25,4122	12,7061	6,362	0,0036703
Resíduo	48	95,8708	1,9973		
TOTAL	50	121,2830			

TABELA 6. Médias, intervalos de confiança a 95% e coeficientes de variação dos níveis de concentração sérica de gamaglobulina (g/100 ml) nos soros dos terneiros.

Nº	Tratamentos	Número de repetições	Médias e Intervalo de confiança	Coeficiente de variação
01	Testemunha G1	25	2,7440 ± 0,0172	49,13
02	Culturas de Pasteurellas e Salmonellas G2	13	4,1754 ± 0,9868	39,11
03	Imunoglobulinas G3	13	4,1362 ± 0,7848	31,40

Tabela 7. Comparação entre as médias pelo teste de DUNCAN - Nível de significância $P < 0,01$ para o nível de concentração de gamaglobulina.

Nº de ordem	Grupos	Tratamentos	Soma	Médias
01	G2	Culturas de Pasteurellas e Salmonellas	54,2800	4,175a
02	G3	Imunoglobulinas normais	53,7700	4,1362b
03	G1	Testemunha	68,6000	2,7440b

Obs: As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si.

As frações alfa e betaglobulina não apresentaram diferença significativa, o que concorda com o resultado achado por STAPLES et alii (44) para terneiro aparentemente sadio.

O nível de concentração de 1,21 g/100 ml para a alfa globulina é inferior àquele encontrado por MCCOY et alii (27) e superior ao de STAPLES et alii (44) e 1,25 g/100 ml para a betaglobulina, superior aos limites citados para essa fração. A correlação positiva encontrada neste trabalho entre beta e gama globulina ($r = 0,4836$) talvez possa ser explicada pela consideração das outras frações séricas como possíveis portadoras de anticorpos.

As médias de proteína sérica total, por tratamento, detectadas nos animais deste trabalho (G1 7,98; G2 9,48 e G3 9,14 g/100 ml), estão situadas acima dos limites encontrados pelos autores apresentados na Tabela 1. O grupo sem tratamento (G1) com uma concentração média de 7,98 g/100 ml está, insignificamente acima do valor encontrado por PERK & LOBL (35), BUSH et alii (6), JAMES & POLAN (16) e MACHADO & D'ARCE (24). Excluíram-se dessa discussão os níveis publicados por NAYLOR & KRONFELD (30), pois estes colheram suas amostras quando os terneiros atingiram 24 horas de vida, não permitindo com isso uma total absorção, como observa PENHALE et alii (32) e nem a urgência decisiva do primeiro aleitamento, segundo SMITH et alii (42), McBEATH et alii (26) e RADOSTIST (38). LaMOTTE (28) foi excluído por ter colhido suas amostras propiciando aos terneiros somente um litro de colostro, pois, segundo SELMAN et alii (40), McEWAN et alii (28), BOYD (3), FISHER & de la FUENTE (19) e BOYD et alii (4), a quantidade de colostro ingerido é um dos fatores determinantes dos altos índices de concentração de proteínas totais no soro sanguíneo de terneiros.

As concentrações séricas de gama globulina observadas nesta pesquisa para os três grupos (G1, G2 e G3) foram inferiores à média de VIOR et alii (45), porém a média do grupo sem tratamento (G1) ficou dentro dos limites de variação encontrados por STAPLES et alii (44) e as dos grupos tratados (G2 e G3) foram superiores. As três médias foram consideravelmente acima das demais autores citados na Tabela 1.

Foram considerados neste trabalho dados de diferentes condições experimentais observados por alguns autores, concordando com STAPLES et alii (44) quanto à existência de acentuada variabilidade individual nas concentrações de albumina e das frações globulinas alfa, beta e gama e, ainda, com SELMAN et alii (40) e LOGAN et alii (23) quanto ao tempo mínimo necessário para um nível máximo de concentração no soro de terneiros.

CONCLUSÕES

Após vacinação de vacas prenhes com culturas de *Pasteurella bovis* e *Salmonella enteritidis*, inativadas pelo formol, e o tratamento com Imunoglobulina normal, pode-se concluir que:

1. Houve aumento significativo da fração sérica gama globulina no soro do recém-nascido.
2. Os níveis de concentração de gama globulina sérica dos terneiros são muito semelhantes e estatisticamente significativos.
3. A aplicação dos antígenos mencionados não altera as concentrações séricas da albumina e das frações alfa e betaglobulina nos soros dos terneiros.
4. A vacinação é mais eficiente, econômica, de menor dose e pode ser recomendada aos criadores.

LITERATURA CITADA

1. BAINTRER, K. & VERESS, B. Protein absorption in new-born ruminants. *Magg. Allatorv. Lap.*, 22:97-100, 1967.
2. BALFOUR, W.E. & COMLINE, R.S. Acceleration of the absorption of unchanged globulin in the new-born calf by factors in colostrum. *J. Physiol.*, 160: 234-57, 1962.
3. BOYD, J.W. The relationship between serum immune globulin deficiency and disease in calves: A farm survey. *Vet. Rec.*, 90:645-9, 1972.
4. BOYD, J.W.; BAKER, J.R.; LEYLAND, A. Neonatal diarrhea in calves. *Vet. Rec.*, 95:310-3, 1974.
5. BRIGGS, C.; LOVELL, R.; ASCHAFFENBURG, R.; BARTLETT, S.; KON, S.; ROY, J.; THOMPSON, S.; WALKER, D. The nutritive value of colostrum for the calf. *Br. J. Nutr.*, 5:356-62, 1951.
6. BUSH, L.J.; AGUILERA, M.A.; ADAMS, G.D. Absorption of colostrum immunoglobulins by new-born dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 54(10):1547-9, 1971.
7. CARLSON, S.M.A. & MULLER, L.D. Compositional and metabolic evaluation of colostrum preserved by four methods during warm ambient temperatures. *J. Dairy Sci.*, 60:566-74, 1977.
8. CORLEY, L.D.; STALEY, T.E.; BUSH, L.J.; JONES, E.W. Influence of colostrum on transepithelial movement of *Escherichia coli* 055. *J. Dairy Sci.*, 60: 1416-21, 1977.
9. DIXON, F.J.; WEIGLE, W.O.; VASQUEZ, J.J. Metabolism and mammary secretion of serum proteins in the cow. *Laboratory Investigation*, 10:216-37, 1961.
10. FEY, H. & MARGADANT, A. Hypogammaglobulinaemia in calves with *E. coli* septicaemia. *Path. et Microbiol.*, 24:970-6, 1961.
11. FOLEY, J.A.; HUNTER, A.G.; OTTERBY, D.E. Absorption of colostrum proteins by new-born calves fed unfermented, fermented, or buffered colostrum. *J. Dairy Sci.*, 61:1450-6, 1978.
12. FOLEY, J.A. & OTTERBY, D.E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: A Review. *J. Dairy Sci.*, 61: 1033-60, 1978.
13. GAY, C.C. *Escherichia coli* and neonatal diseases of calves. *Bact. Rev.* 29:75-101, 1965.
14. GAY, C.C.; ANDERSON, N.; FISHER, E.W.; McEWAN, A.D. Gamma globulin levels and neonatal mortality in market calves. *Vet. Rec.*, 77(5):148-9, 1965.
15. HOWE, P.E. An effect of the ingestion of colostrum upon the composition of blood of new-born calves. *J. Biological Chemistry*, 49:115-8, 1921.
16. JAMES, R.E. & POLAN, C.E. Effect of orally administered duodenal fluid on serum proteins in neonatal calves. *J. Dairy Sci.*, 61:1444-9, 1978.
17. JEFFCOTT, L.B. Studies on passive immunity in the foal. 1 - Gamma globulin

- and antibody variations associated with the maternal transfer of immunity. *J. Comp. Path.*, 84:93-101, 1973.
18. KLAUS, G.G.B.; BENNETT, A.; JONES, E.W. A quantitative study of the transfer of colostrum immunoglobulins to the new-born calf. *Immunology*, 16:293-9, 1969.
 19. KRUSE, V. Absorption of immunoglobulin from colostrum in new-born calves. *Am. J. Vet. Res.*, 12: 627-38, 1970.
 20. LaMOTTE, G.B. Total serum protein, serum protein fractions and serum immunoglobulins in colostrum-fed and colostrum-deprived calves. *Am. J. Vet. Res.*, 38(2):263-8, 1977.
 21. LOGAN, E.F.; McBEATH, D.G.; LOWMAN, B.G. Quantitative studies on serum immunoglobulin levels in suckled calves from birth to five weeks. *Vet. Rec.*, 20:367-70, 1974.
 22. LOGAN, E.F. & PENHALE, W.J. Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. III. The local protective activity of colostrum within the gastro-intestinal tract. *Vet. Rec.*, 89:628-34, 1971.
 23. LOGAN, E.F.; STENHOUSE, A.; ORMROD, D.J. The role of colostrum immunoglobulins in intestinal immunity to enteric colibacillosis in the calf. *Res. Vet. Sci.*, 17:290-301, 1974.
 24. MACHADO, R. N. & D'ARCE, R.D. Gamaglobulinas séricas de bezerros recém-nascidos da raça Nelore. *Rev. Soc. Bras. Zoot.*, 8(1):33-41, 1979.
 25. MEBUS, C.A.; WITER, R.G.; BASS, E.P.; TWIEHAUS, M.J. Immunity to neonatal calf diarrhea virus. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 163:880-5, 1973.
 26. McBEATH, D.G.; PENHALE, W.J.; LOGAN, E.F. An examination of the influence of husbandry immunoglobulin level of the new-born calf, using a rapid refractometer test for assessing immunoglobulin content. *Vet. Rec.*, 88:266-70, 1971.
 27. McCOY, G.C.; RENEAU, J.K.; HUNTER, A.G.; WILLIAMS, J.B. Effect of diet and time on blood serum proteins in the new-born calf. *J. Dairy Sci.*, 53(3): 358-62, 1970.
 28. McEWAN, A.D.; FISHER, E.W.; SELMAN, I.E. An estimation of the efficiency of the absorption of immune globulins from colostrum by newborn calves. *Res. Vet. Sci.*, 11:239-43, 1970.
 29. McLEAN, D.M.; RUR, B.; BAILEY, L.F. The effectiveness of three treatments for scouring in calves. *Aust. Vet. J.* 43:336-8, 1972.
 30. NAYLOR, J.M. & KRONFELD, D.S. Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the new-born dairy calf: comparison with the zinc sulfate turbidity test and single radial immunodiffusion. *Am. J. Vet. Res.*, 38(9):1331-3, 1977.
 31. OXENDER, W.D.; NEWMAN, L.E.; MORROW, D.A. Factors influencing dairy calf mortality in Michigan. *J. Am. Vet. Ass.*, 162(6):458-60, 1973.
 32. PENHALE, W.J.; LOGAN, E.F.; SELMAN, I.E.; FISCHER, E.W.; McEWAN, A.D. Observations on the absorption of colostrum immunoglobulins by the neonatal calf and their significance in colibacillosis. *Ann. Rech. Vet.*, 4:223-33, 1973.
 33. PENHALE, W.J.; CRISTIC, G.; McEWAN, A.D.; FISCHER, E.W.; SELMAN, I.E. Quantitative studies on bovine immunoglobulins. II. Plasma immunoglobulin levels in market calves and their relationship to neonatal infection. *Br. Vet. J.*, 126:30-6, 1970.
 34. PENHALE, W.J.; LOGAN, E.F.; STENHOUSE, A. Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. II. Preparation of an IgM-rich fraction from bovine serum and its prophylactic use in experimental colisepticemia. *Vet. Rec.*, 89(24):623-8, 1971.
 35. PERK, K. & LOBI, K. Anammoglobulinemia in a 3-month-old calf. *Am. J. Vet. Res.*, 23(92):171-4, 1962.

36. PIERCE, A.E. Proteinuria in the newly born. *Proceeding of the Royal Society of Medicine.*, 54:996-9, 1961.
37. PIERCE, A.E. & FEINSTEIN, A. Biophysical and immunological studies on bovine immune globulins with evidence for elective transport either the mammary gland from maternal plasma to colostrum. *Immunology*, 8:106-23, 1965.
38. RADOSTIST, O. M. Treatment and control of neonatal diarrhea in calves. *J. Dairy Sci.*, 58(3):464-70, 1975.
39. ROY, J.H.B. & TERNOUTH, J.H. Nutrition and enteric diseases in calves. *Proc. Nutr. Soc.*, 31:53-60, 1972.
40. SELMAN, I.E.; McEWAN, A.D.; FISHER, E.W. Serum immune globulin concentrations of calves left with their dams for the first two days of life. *J. Comp. Path.*, 80:419-27, 1970.
41. SELMAN, I.E.; McEWAN, A.D.; FISHER, E.W. Absorption of immune lactoglobulin by new-born dairy calves. *Res. Vet. Sci.*, 12:205-10, 1971.
42. SMITH, H.W.; O'NEIL, J.A.; SIMMONS, E.J. The immune globulin content of the serum of calves in England. *Vet. Rec.*, 80(23):664-6, 1967.
43. SMITH, T. & LITTLE, R.B. The significance of colostrum to the new-born calf. *J. Exp. Med.*, 36:181-98, 1922.
44. STAPLES, G.E.; ANDREWS, M.F.; PARSONS, R.M.; McILWAIN, P.K. Young calves: relation of neonatal health status and sex to some blood components. *J. Anim. Sci.*, 31:383-8, 1970.
45. VIOR, C.; TOMA, A.M.; GRIGORE, C.; CONSTANTINESCU, C.; SECASIU, V.; CONTORA, N. Investigations on immunoglobulins in calves. *Archiva Veterinaria*, 2(10):13-22, 1973.
46. WARD-COX, I.S. A note on the gamma-globulin content of the serum of new-born calves. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.*, 39(3): 51-2, 1968.
47. WATT, J.G. The use of fluid replacement in the treatment of neonatal diseases in calves. *Vet. Rec.*, 77:1474-82, 1965.