

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Cláudia Medeiros Rodrigues

**EFEITO METAFILÁTICO DO DISSELENETO DE DIFENILA NA  
SAÚDE DE BEZERRAS HOLANDESAS**

Santa Maria, RS  
2019

**Cláudia Medeiros Rodrigues**

**EFEITO METAFILÁTICO DO DISSELENETO DE DIFENILA NA SAÚDE DE  
BEZERRAS HOLANDESAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Cirurgia e Clínica Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Marta Lizandra do Rêgo Leal

Santa Maria, RS

Rodrigues, Cláudia Medeiros  
EFEITO METAFILÁTICO DO DISSELENETO DE DIFENILA NA  
SAÚDE DE BEZERRAS HOLANDESAS / Cláudia Medeiros  
Rodrigues.- 2019.  
42 p.; 30 cm

Orientadora: Marta Lizandra do Rêgo Leal  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2019

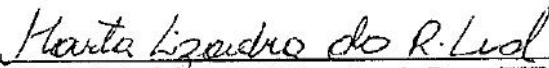
1. Clínica de ruminantes 2. Bovinocultura de leite 3.  
Metafilaxia 4. Disseleneto de difenila I. Lizandra do  
Rêgo Leal, Marta II. Título.

Cláudia Medeiros Rodrigues


**EFEITO METAFILÁTICO DO DISSELENETO DE DIFENILA NA SAÚDE DE  
BEZERRAS HOLANDESAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós - Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Cirurgia e Clínica Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2019:

  
Marta Lizandra do Rêgo Leal, Dra. (UFSM)  
(Presidente/Orientadora)

  
Ricardo Pozzobon, Dr. (UFSM)

  
Maiana Garcia Blagitz, Dra. (UFFS) *Videoconferência*

Santa Maria, RS  
2019

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e por ser fonte inestimável de amor e força para seguir em frente.

Aos meus pais, Maria e Francisco, pelos valores transmitidos, por cada cobrança e pelo suporte financeiro e emocional inestimável.

Ao meu namorado Alessandro, pelo companheirismo, apoio e amor ao longo dos anos.

À minha orientadora, Professora Marta Leal, pela oportunidade de crescimento profissional, confiança e ensinamentos transmitidos.

À toda a equipe da Clínica de Ruminantes, pelo aprendizado e pela amizade compartilhada.

À fazenda Kapakeffa, por disponibilizar os animais e toda a sua estrutura. Agradecimento que se estende em especial ao funcionário e Zootecnista Renan Garcia.

À Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), *Campus Xanxerê*, pela disponibilização de sua estrutura, onde pude realizar o processamento e o armazenamento das amostras.

As Professoras Silvana Giacomini Collet e Giovana Camillo, da UNOESC, pelo suporte durante a realização do experimento.

Aos estagiários e alunos da UNOESC Michele Helena Weirich, Mauricio Grigolo, Camila Nespolo, Ghyovana Letícia Pazini, Cristiane Dall Alba, Juliana Romani, Alex Lorenzetti e Cristiane Pain, pelo auxílio durante as coletas.

Aos colegas pós-graduandos Juliana Sorrailla de Oliveira, Guilherme Lopes Dornelles, Mike Menezes e Marla Schneider, assim como a Professora Marta Maria Medeiros Frescura Duarte e ao LABIMED, pela colaboração na realização das análises laboratoriais.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), pela oportunidade de aperfeiçoamento profissional através do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos animais, pela paciência e colaboração.

E a todos que de alguma forma contribuíram na elaboração deste trabalho, o meu muito obrigada.

*“Deus nos concede, a cada dia, uma página  
de vida nova no livro do tempo.  
Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa  
conta.”*

Chico Xavier

## RESUMO

### EFEITO METAFILÁTICO DO DISSELENETO DE DIFENILA NA SAÚDE DE BEZERRAS HOLANDESAS

AUTORA: Cláudia Medeiros Rodrigues  
ORIENTADORA: Marta Lizandra do Rêgo Leal

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito metafilático do disseleneto de difenila (PhSe)<sub>2</sub> na saúde de bezerras holandesas do nascimento ao desmame. Foram utilizadas vinte fêmeas bovinas da raça Holandesa, do nascimento aos setenta dias de vida, distribuídas em dois grupos de 10 animais. O grupo disseleneto de difenila (GDD) recebeu 1,5 µmol/kg de (PhSe)<sub>2</sub> diluído em 2 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), por via subcutânea (SC), enquanto o grupo controle (GC) recebeu apenas o DMSO em mesmo volume, SC. As aplicações foram realizadas nos dias 7, 21, 35 e 49 de vida. As avaliações clínicas, pesagem e coleta de amostras, foram realizadas nos mesmos dias das administrações, com uma última avaliação no dia 70. Maiores valores do peso e do ganho de peso médio diário (GPMD) foram observados no dia 70 no GDD em relação ao GC ( $p < 0,05$ ). Ao desmame (70 dias) o GDD apresentou média de 7,7 kg a mais em relação ao GC. Porém, para as variáveis incidência de doenças, proteína sérica, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutathione peroxidase (GPx) e metabolismo oxidativo e fagocitose dos neutrófilos não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Quanto a imunoglobulina G (IgG), com exceção do dia 7, maiores teores foram detectados no GDD em comparação com o GC ( $p < 0,05$ ), e dentro do GDD as bezerras apresentaram aumento gradual da IgG ao longo do período experimental. Os resultados nos permitem afirmar que a metafilaxia com (PhSe)<sub>2</sub> incrementa o ganho de peso e a imunidade de bezerras holandesas do período neonatal ao desmame.

**Palavras - chave:** Imunidade. Imunoglobulina G. Metabolismo Oxidativo. Selênio.

## ABSTRACT

### METAPHYLACTIC EFFECT OF DIPHENYL DISELENIDE IN HEALTH OF HOLSTEIN CALVES

AUTHOR: Cláudia Medeiros Rodrigues  
ADVISOR: Marta Lizandra Do Rêgo Leal

The objective of this work was to evaluate the metaphylactic effect of diphenyl diselenide (PhSe)<sub>2</sub> on the health of Holstein calves from birth to weaning. Twenty female Holstein calves from birth to seventy days old were used, distributed in two groups of 10 animals. The diphenyl diselenide group (DDG) received 1.5 µmol/kg of (PhSe)<sub>2</sub> diluted in 2 mL of dimethylsulfoxide (DMSO) subcutaneously (SC), while the control group (CG) received only DMSO in the same volume, SC. The applications were performed on days 7, 21, 35 and 49 of life. Clinical evaluations, weighing and sample collection were performed on the same administration days, with a final evaluation on day 70. Higher values of weight and mean daily weight gain (MDWG) were observed at day 70 in DDG compared to CG ( $p < 0.05$ ). At weaning (70 days) DDG presented an average of 7.7 kg more than CG. However, for the variables incidence of diseases, serum protein, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), glutathione peroxidase (GPx) and oxidative metabolism and neutrophil phagocytosis no significant differences were observed between the groups ( $p > 0.05$ ). With respect to immunoglobulin G (IgG), except for day 7, higher levels were detected in the DDG compared to the CG ( $p < 0.05$ ), and within the DDG the calves showed a gradual increase of IgG throughout the experimental period. The results allow us to affirm that metaphylaxis with (PhSe)<sub>2</sub> increases the weight gain and immunity of Holstein calves from the neonatal period to weaning.

**Keywords:** Immunity. Immunoglobulin G. Oxidative Metabolism. Selenium.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
(PhSe) <sub>2</sub>	Disseleneto de difenila
µg/L	Micrograma por litro
CAT	Catalase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio imunossorvente ligado a enzima
ER	Espécies reativas
FTIP	Falha na transferência de imunidade passiva
G	Gramas
g/dL	Gramas por decilitro
GGT	Gama glutamiltransferase
GPx	Glutathione peroxidase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
IgG	Imunoglobulina G
mg/kg	Miligramas por quilograma
mg/mL	Miligramas por mililitro
MS	Matéria seca
SOD	Superóxido dismutase
UI	Unidades internacionais

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	11
2.1	CRIAÇÃO DE BEZERRAS E DOENÇAS NO PERÍODO NEONATAL .....	11
2.2	TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA.....	11
2.3	COLOSTRO .....	12
2.4	FATORES PARA ADEQUADA COLOSTRAGEM .....	13
<b>2.4.1</b>	<b>Qualidade</b> .....	13
<b>2.4.2</b>	<b>Volume</b> .....	14
<b>2.4.3</b>	<b>Tempo</b> .....	14
2.5	AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA.....	15
2.6	DESMAME .....	16
2.7	ESTRESSE OXIDATIVO.....	16
2.8	MINERAIS .....	18
2.9	DISSELENETO DE DIFENILA .....	18
<b>3</b>	<b>ARTIGO</b> .....	21
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	38
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39



## 1 INTRODUÇÃO

Para que as bezerras tornem-se novilhas de reposição há um longo caminho a percorrer, e ele tem início logo após o nascimento, já que o período neonatal é considerado uma fase crítica da produção, pois o manejo a que as bezerras forem submetidas, durante esta etapa, implicará sobre toda sua vida produtiva, influenciando significativamente no seu desempenho futuro (SANTOS, DAMASCENO & KAZAMA, 2010).

Os ruminantes nascem sem adequada imunidade humoral, devido a particularidade da placenta desta espécie, denominada sinepiteliocorial, que protege o feto contra vírus e bactérias, e também age impedindo a passagem de imunoglobulinas, que migrariam da circulação materna para a fetal (PRESTES & LANDIM-ALVARENGA, 2006). Dessa forma, os bezerros recém-nascidos são dependentes da transferência passiva de imunoglobulinas maternas colostrais logo após o nascimento (VOGELS et al., 2013).

Quando a transferência de imunidade passiva não é realizada adequadamente, as bezerras tornam-se mais susceptíveis a ocorrência de doenças (GODDEN, 2008), e estas não são responsáveis somente pela mortalidade, mas também pela perda e/ou menor ganho de peso das bezerras sobreviventes (BEAM et al., 2009). Vale ressaltar também que o estresse metabólico desencadeado pelo desaleitamento, pode levar ao consumo das reservas energéticas e proteicas, resultando em estresse oxidativo (MORAES et al., 2002).

O estresse oxidativo é resultado do excesso da produção de espécies reativas de oxigênio ou de nitrogênio, ou da capacidade antioxidante deficiente do organismo (GASCHLER & STOCKWELL, 2017). Atuando na proteção contra essas espécies reativas (ER), temos os antioxidantes, que podem agir impedindo a sua formação (BARBOSA et al., 2010), interceptando as espécies reativas geradas pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, e impedindo sua ação ao evitar lesões e a perda da integridade celular (ELLAH, 2010).

Entre os micronutrientes essenciais o selênio merece destaque, pois demonstra atividade de glutathiona peroxidase (GPx), que pode decompor o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e hidroperóxidos orgânicos (NOGUEIRA et al., 2004). Além disso é um elemento constituinte crucial de 20-25 selenoproteínas nos vertebrados (LOBANOV et al., 2008), e possui importantes funções fisiológicas para os mamíferos, já que também atua no

metabolismo dos hormônios tireoideanos (SHCHEDRINA et al., 2010). Sua importância também tem sido relatada pela sua capacidade de estimular o sistema imunológico (BROWN & ARTHUR, 2001).

Entre as formas de selênio, o disseleneto de difenila ( $\text{PhSe}_2$ ) vêm sendo utilizado em pesquisas devido as suas diversas propriedades farmacológicas (NOGUEIRA et al., 2004), sendo empregado no controle de diversas doenças, por mimetizar a atividade antioxidante da GPx e pelo seu papel na prevenção e redução do efeito das ER (MEOTTI et al., 2004).

Existem trabalhos com  $\text{PhSe}_2$  em diferentes espécies, sendo que em peixes foram observadas as propriedades antioxidantes nos tecidos frente a exposição por herbicidas (MENEZES et al., 2012). Em codornas, este elemento levou a melhora na qualidade da carne devido a redução do processo de oxidação no músculo (ROZA et al., 2018). Em ovinos um estudo indicou que os eritrócitos retêm o  $\text{PhSe}_2$  e realizam sua liberação para o plasma e outros tecidos, além de não serem observados sinais de toxicidade para esta espécie (LEAL et al., 2018). Quando utilizado em ovelhas com aptidão leiteira o  $\text{PhSe}_2$  foi capaz de modular as reações oxidativas e a resposta inflamatória (BIAZUS et al., 2018).

Entretanto, ainda não existem trabalhos que utilizaram o disseleneto de difenila ( $\text{PhSe}_2$ ) na espécie bovina. Desta forma, acreditamos que a metafilaxia com este composto possa ser uma alternativa viável no incremento do sistema imune e antioxidante para bezerras holandesas recém-nascidas e, conseqüentemente, possa ter efeitos positivos na saúde desses animais do período neonatal ao desmame.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CRIAÇÃO DE BEZERRAS E DOENÇAS NO PERÍODO NEONATAL

No Brasil a criação de bovinos representa uma das principais atividades agropecuárias, e visando a melhoria genética do rebanho, ocorre o descarte anual de vacas em idade avançada, ou que estejam apresentando alguma enfermidade. Portanto, animais jovens e de potencial produtivo elevado são essenciais para o sucesso na criação (SANTOS, CAVALIERI & MASSUDA, 2001). Entretanto, para que as bezerras tornem-se novilhas de reposição há um longo caminho a percorrer, e ele tem início logo após o nascimento, já que o período neonatal é considerado uma fase crítica da produção, pois o manejo a que forem submetidas durante essa etapa, implicará sobre toda sua vida produtiva, influenciando significativamente no seu desempenho futuro (SANTOS, DAMASCENO & KAZAMA, 2010).

No período neonatal a ocorrência de doenças é comum devido à susceptibilidade a infecções, entre elas podem ser citadas as diarreias neonatais, de origem bacteriana, viral ou por protozoários, que podem causar quadros severos de desidratação e acidose metabólica e, por vezes, culminando na morte dos animais (JEREZ et al., 2002). As alterações respiratórias também são comuns, possuindo etiologia complexa, e vários microrganismos podem estabelecer-se no tecido pulmonar, entre eles os vírus da parainfluenza 3, o adenovírus, o rinovírus, o reovírus e o vírus sincicial respiratório, assim como micoplasmas, que são capazes de comprometer os mecanismos de defesa do trato respiratório, possibilitando a proliferação de bactérias patogênicas ou oportunistas como *Pasteurella multocida*, *Manheimia haemolytica* e *Trueperella pyogenes* (GONÇALVES, 2009). As onfalites decorrentes da cura inadequada do coto umbilical também são comuns e podem levar à formação de focos infecciosos de acordo com o órgão afetado, podendo desencadear pneumonias, artrites, abscessos hepáticos, renais, cardíacos, etc. (REIS et al., 2009).

### 2.2 TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA

As afecções em bezerros podem ser facilitadas pela falha na transferência de imunidade passiva (FTIP), que em si não é considerada uma doença, mas sim uma condição que predispõe o neonato ao desenvolvimento das mesmas (BEAM et al., 2009).

Os bezerros que têm essa condição são mais propensos a apresentarem as doenças supracitadas, além disso, os episódios podem ser considerados mais graves quando em comparação a animais sem FTIP (VOGELS et al., 2013).

As consequências da FTIP são inúmeras, entre elas pode-se destacar as altas taxas de morbidade e mortalidade em bezerros recém-nascidos, aumento das taxas de mortalidade após o desmame e o crescimento reduzido nos animais sobreviventes (FEITOSA et al., 1999). Além dos prejuízos a longo prazo, como diminuição do ganho médio de peso diário em novilhas leiteiras, atraso na idade do primeiro parto e redução na qualidade e quantidade de leite produzido na primeira lactação (FABER et al., 2005).

A FTIP está relacionada a característica dos bovinos de absorverem as imunoglobulinas maternas através do intestino delgado, durante as primeiras horas de vida, conhecida como transferência de imunidade passiva (TIP), a qual auxilia na proteção do bezerro contra organismos patogênicos até que seu próprio sistema imune torne-se funcional (GODDEN, 2008).

Este processo ocorre devido a particularidade da placenta desta espécie, denominada sinepiteliocorial, que protege o feto contra vírus e bactérias, e também age impedindo a passagem de proteínas séricas de grande peso molecular (PRESTES & LANDIM-ALVARENGA, 2006). Tal como as imunoglobulinas, que migrariam da circulação materna para a fetal, desta forma, os bezerros recém-nascidos são agamaglobunêmicos, nascem sem adequada imunidade humoral, sendo dependentes da transferência passiva de imunoglobulinas maternas colostrais imediatamente após o nascimento (VOGELS et al., 2013). Através da ingestão no colostro, estas imunoglobulinas conferem proteção aos bezerros, especialmente pela sua capacidade de opsonização, neutralização e intensificação do mecanismo de citotoxicidade celular dependente de anticorpos (BIBURGER et al., 2014).

### 2.3 COLOSTRO

O colostro bovino distingue-se do leite por possuir maior teor de gordura e proteínas, além de conter elementos solúveis e celulares biologicamente ativos, como as citocinas, fatores de crescimento, hormônios, peptídeos, vitaminas e minerais (MCGRATH et al., 2016). Cerca de 80% da produção de proteínas colostrais é de imunoglobulinas, das quais a imunoglobulina G (IgG) é a principal constituinte, além de

ser o principal componente imune transferido da circulação sanguínea para a glândula mamária pelo mecanismo de colostrogênese (WATSON, 1980).

Esse processo inicia semanas antes do parto, através da influência de hormônios lactogênicos, porém logo após o parto cessa abruptamente, ou seja, a concentração desses constituintes é elevada na primeira ordenha pós-parto e declina substancialmente ao longo das ordenhas consequentes, desta maneira a composição irá mudar para o conhecido leite de transição até que alcance em alguns dias os teores estáveis encontrados no leite padrão (GODDEN, 2008).

## 2.4 FATORES PARA ADEQUADA COLOSTRAGEM

O sucesso na TIP depende de fatores fundamentais como o consumo e a absorção efetiva de uma quantidade adequada de imunoglobulinas (BEAM et al., 2009). Entretanto, entre os principais fatores que podem afetar a quantidade de imunoglobulinas ingeridas pelo neonato estão a qualidade e o volume de colostro fornecido, além disso a absorção de imunoglobulinas está intimamente relacionada a rapidez com que o colostro é ofertado após o nascimento, uma vez que a capacidade de absorção diminui com o decorrer do tempo de vida do animal (GODDEN, 2008).

### 2.4.1 Qualidade

Para que o colostro seja considerado de alta qualidade é fundamental que apresente concentrações de IgG superiores à 50 mg/mL, entretanto, é importante ressaltar que inúmeros fatores podem afetar a sua qualidade (MCGUIRK & COLLINS, 2004). Como os animais tendem a produzir imunoglobulinas em resposta aos patógenos aos quais foram expostos, a idade e o histórico das vacas são fatores relevantes, uma vez que espera-se que as multíparas tenham sido expostas a um maior número de patógenos quando em comparação as primíparas, portanto, tendem a produzir colostro com maiores concentrações de imunoglobulinas (BEAM et al., 2009).

Dessa forma a qualidade pode variar significativamente entre os animais e entre propriedades, uma vez que as vacas criadas em determinada propriedade produzirão anticorpos específicos para os organismos daquele local (MCGUIRK & COLLINS, 2004). Além disso a produção de colostro na primeira ordenha é bastante relevante, pois a concentração de IgG está negativamente correlacionada com a quantidade de colostro



produzido na primeira ordenha, mostrando que animais de alta produção podem produzir colostro com baixas concentrações de imunoglobulinas pelo efeito de diluição (GODDEN, 2008).

A recomendação para a coleta de colostro é que seja realizada o mais rápido possível, estipulando-se o período máximo de 6 horas pós-parto, evitando assim perdas relacionadas a sua qualidade, uma vez que existe uma associação negativa entre a primeira ordenha e um declínio nas concentrações de IgG (MOORE et al., 2005).

Embora haja uma variedade de ferramentas para a avaliação da qualidade do colostro, tais métodos necessitam fácil aplicação à campo, de forma que as avaliações possam ser realizadas na própria fazenda. O uso do refratômetro ou índice de brix é um método de fácil aplicação, tendo como vantagem a sua utilização independente da temperatura da amostra (BIELMANN et al., 2010). Este método fornece a medida da concentração da sacarose em líquidos, porém quando utilizado em líquidos onde não há esta substância, foi observada uma alta correlação entre os valores obtidos e o teor de sólidos totais (QUIGLEY et al., 2013).

#### **2.4.2 Volume**

Considera-se necessária a ingestão mínima de 100 a 150 g de IgG para assegurar uma absorção suficiente pelos bezerros, porém o volume de colostro necessário para atender a esses valores varia de acordo com a concentração de imunoglobulinas, visto que quanto maior for a qualidade menor volume torna-se necessário (MCGUIRK & COLLINS, 2004).

No entanto a recomendação atual baseia-se no fornecimento de maiores volumes de colostro na primeira refeição (GODDEN, 2008). Supondo que a concentração exata de IgG da amostra é desconhecida, geralmente é recomendado fornecer ao bezerro 15% do peso corporal de colostro na primeira alimentação, pois espera-se que ao consumir tal volume seja assegurada a ingestão de imunoglobulinas em quantidades suficientes (MCGRATH et al, 2016).

#### **2.4.3 Tempo**

A absorção de imunoglobulinas pelos bezerros é um processo extremamente sensível ao tempo, pois logo após o nascimento a atividade proteolítica do trato

gastrointestinal desses animais é baixa, dessa forma as proteínas colostrais chegam ao intestino delgado intactas (VOGELS et al., 2013). A capacidade de absorção dessas imunoglobulinas ocorre através da ligação à receptores presentes nas células epiteliais intestinais, mais especificamente nas porções do jejuno e íleo, os quais uma vez ligados à uma proteína sofrem pinocitose e são levados ao interior dessas células sob forma de pequenos glóbulos, os quais atravessam a membrana em direção à base celular, por meio de um sistema de túbulos, e em seguida, alcançam a circulação sanguínea (FEITOSA et al., 2001).

A absorção permanece eficaz até 24 horas pós-parto, porém o processo de fechamento do intestino ou “closure” começa a ocorrer após 6 horas, reduzindo severamente a eficiência absorptiva em 12 horas e aproximando-se rapidamente do fechamento às 24 horas (VOGELS et al., 2013). No entanto, as imunoglobulinas remanescentes no interior do lúmen, após este período, atuam na proteção local contra infecções virais entéricas e diarreias por enterotoxinas (BIBURGUER et al., 2014).

Contudo, o intestino do recém-nascido não é seletivo na absorção de moléculas e, embora possa absorver imunoglobulinas, também pode permitir a entrada de bactérias. Portanto, para garantir a máxima absorção, redução da colonização e absorção bacteriana, recomenda-se que os bezerros recebam o colostro até as primeiras 6 horas de vida (GODDEN, 2008).

## 2.5 AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA

Existem vários métodos disponíveis para realizar a avaliação da TIP em recém-nascidos, apesar de existirem testes específicos, alguns permitem rápida tomada de decisão clínica, uma vez que podem ser realizados em condições de campo e fornecerem rápidos resultados (BEAM et al., 2009).

Estes testes podem ser efetuados poucos dias após o nascimento, sendo ideal que as avaliações sejam realizadas pelo menos entre 1 a 7 dias do nascimento (ATKINSON, VON KEYSERLINGK & WEARY, 2017). Depois desta idade a relação entre proteína do soro e imunoglobulinas pode mudar devido a absorção de proteínas da dieta e migração de imunoglobulinas do sangue para outros locais do organismo (QUIGLEY et al., 2013).

Como exemplo de um método de custo viável e de fácil aplicação para a rotina da propriedade podemos citar a mensuração da proteína total pelo refratômetro, através do qual mensura-se a proteína no sangue dos recém-nascidos, que basicamente é constituída

por albumina e globulinas (alfa, beta e gamaglobulinas), sendo que, na fração gamaglobulina estão alocadas as imunoglobulinas adquiridas através da ingestão de colostro (MCGUIRK & COLLINS, 2004). Sabe-se que após a ingestão de colostro, o valor das proteínas dos recém-nascidos aumenta em torno de 2 g/dl, sendo que o limite considerado como indicador de transferência imunitária passiva para obter-se sucesso são valores de proteína total superiores a 5,5 g/dL (THRALL et al., 2007).

Para que possamos mensurar diretamente as imunoglobulinas séricas, alguns testes estão disponíveis, como a imunodifusão radial, ensaio imunosorbente ligado a enzima (ELISA), de forma indireta temos ainda a avaliação da proteína total, o teste de precipitação por sulfato de sódio, o teste de precipitação por sulfato de zinco, o teste de coagulação do glutaraldeído no sangue total e a atividade da gama glutamiltransferase (GGT) (GODDEN, 2008).

## 2.6 DESMAME

Como a principal fonte de alimento dos bezerros baseia-se na ingestão de leite, o momento do desmame constitui uma fonte de estresse, podendo resultar em perda de apetite e conseqüentemente perda de peso e maior risco de ocorrência de doenças (COSTA & SILVA, 2014). Dessa forma a redução gradativa no fornecimento de leite é essencial, sendo considerada uma prática adequada de manejo durante o desmame (CAMPOS, 2000).

O desaleitamento pode ser realizado de diferentes formas, podendo ser determinado de acordo com a idade dos animais (BACH et al., 2010), peso vivo ou ganho de peso apresentado (COSTA & SILVA, 2014), e até mesmo pelo consumo diário de concentrado (CAMPOS, 2000). Além disso para que o crescimento dos animais não seja afetado, também deve ser considerado o desenvolvimento parcial do rúmen e, a sua capacidade de absorver e metabolizar os produtos finais da fermentação (BITTAR et al., 2009).

## 2.7 ESTRESSE OXIDATIVO

Além da ocorrência de doenças comumente manifestadas neste período, a presença de estresse metabólico relacionado ao desmame, como citado anteriormente,

pode ser grave, levando os bezerros a consumirem suas reservas energéticas e proteicas, resultando em estresse oxidativo (MORAES et al., 2002).

O estresse oxidativo ocorre como resultado do excesso da produção de espécies reativas (ER) de oxigênio ou nitrogênio e/ou da capacidade antioxidante deficiente do organismo (GASCHLER & STOCKWELL, 2017). Sabe-se que a oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo. Portanto, as ER podem ser produzidos naturalmente ou através de disfunções biológicas (PUPPEL et al., 2015).

No organismo as ER encontram-se envolvidos em processos como produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas (ELLAH, 2010). Entretanto, o excesso de ER causa efeitos deletérios, tais como a peroxidação dos lipídeos nas membranas celulares, a oxidação das proteínas em tecidos e membranas, de enzimas, de carboidratos e de ácido desoxirribonucleico (DNA) (PUPPEL et al., 2015).

Atuando em diferentes níveis de proteção do organismo contra as ER, temos os antioxidantes, sendo que o primeiro mecanismo de defesa é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia envolvendo elementos como ferro e cobre (BARBOSA et al., 2010). Além disso, são capazes de interceptar as ER geradas pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo sua ação e evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (ELLAH, 2010).

Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais, esse processo está relacionado com a remoção de danos na molécula de DNA e a reconstrução das membranas celulares danificadas (GASCHLER & STOCKWELL, 2017). Em algumas situações pode ocorrer a adaptação do organismo em resposta a geração das espécies reativas desencadeando o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (BARBOSA et al., 2010).

O sistema de defesa antioxidante está dividido em enzimático e não enzimático, sendo que o grupo que compreende os antioxidantes enzimáticos inclui a superóxido desmutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPx), representando as principais formas de defesa antioxidante intracelular (BARBOSA et al., 2010). Enquanto os não enzimáticos são provenientes da síntese endógena ou da dieta, e estes incluem os carotenoides, as vitaminas e os minerais, os quais são capazes de fornecer átomos de hidrogênio as ER (CONTRERAS & SORDILLO, 2011).

## 2.8 MINERAIS

Os minerais estão presentes em todas as células e tecidos corporais, onde atendem uma ampla variedade de funções, e suas concentrações variam de acordo com as exigências, sendo geralmente mantidas dentro dos limites para atividade funcional e integridade tecidual, e para a manutenção de níveis satisfatórios de crescimento, saúde e produtividade animal (PASA, 2011).

## 2.9 DISSELENETO DE DIFENILA

Entre os micronutrientes essenciais o selênio merece destaque, pois é um elemento constituinte crucial de 20-25 selenoproteínas em vertebrados (LOBANOV et al., 2008), e possui importantes funções fisiológicas para os mamíferos, atuando no metabolismo dos hormônios tireoideanos, peróxidos e espécies reativas (SHCHEDRINA et al., 2010). Além disso faz parte da enzima glutatona peroxidase (GPx), que pode decompor o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e hidroperóxidos orgânicos, que são maléficos para as células e tecidos quando produzidos em grandes quantidades (NOGUEIRA et al., 2004). A deficiência desse mineral tem sido relacionada a alterações no crescimento, saúde e fertilidade das fêmeas bovinas (SUTTLE, 2010). Ao longo dos anos diversos focos de deficiência deste mineral foram relatados em várias regiões do mundo, incluindo casos no Brasil (MORAES et al., 1999), sendo a sua suplementação considerada indispensável na dieta dos bovinos (SUTTLE, 2010).

Os requerimentos de selênio estabelecidos na literatura para todas as classes de bovinos leiteiros, são de 0,3 mg/kg de matéria seca (MS) (NRC, 2001). Quando pensamos na ingestão de selênio pelos bezerros, devemos levar em consideração que suas concentrações são maiores no colostro quando em comparação ao leite, com valores médios de 70  $\mu\text{g/L}$  (colostro) e 40  $\mu\text{g/L}$  (leite) em vacas não suplementadas (SUTTLE, 2010). Entretanto, vacas que receberam suplementação parenteral com esse mineral durante o período seco, apresentaram maiores valores de selênio no colostro do que animais não suplementados, porém tais valores não diferem no leite aos 7 e 21 dias após o parto (GIERUS et al., 2007), isso porque existem relatos de que o efeito da suplementação possui vida curta, de aproximadamente 14 dias (SUTTLE, 2010).

Uma vez que a concentração de selênio nas plantas forrageiras e grãos é dependente de sua concentração no solo, podem ocorrer variações, ou seja, em uma mesma área podem existir locais com teores normais de selênio no solo, seguido de áreas

próximas com deficiência deste elemento, podendo assim, afetar a ingestão total do selênio pelos animais (STEVENS et al., 1985).

Dessa forma do período neonatal ao desmame, a ingestão de selênio pelas bezerras pode estar baixa ou próxima do limiar mínimo, sendo que o animal depende exclusivamente da alimentação como fonte deste mineral. No entanto, o estresse do desmame pode alterar o metabolismo basal, a síntese proteica e a função do sistema imunológico, reduzindo assim o desempenho animal (MORAES et al., 2002).

Contornar esta situação, bem como fazer com que o animal busque alimento é importante para garantir o desenvolvimento do bezerro. O disseleneto de difenila (PhSe)<sub>2</sub>, que conserva as mesmas propriedades benéficas do selênio inorgânico, é altamente lipofílico e apresenta diversas propriedades farmacológicas (NOGUEIRA et al., 2004). Portanto, acreditamos que a suplementação com este mineral possa melhorar a saúde de bezerras do nascimento ao desmame.

Essa molécula têm sido alvo de estudos no controle de doenças, pois é componente da selenoproteína GPx, um potente antioxidante, e pelo seu papel na prevenção e redução dos efeitos das espécies reativas no organismo (MEOTTI et al., 2004). Em peixes suplementados com (PhSe)<sub>2</sub> e expostos a herbicidas, foi observado aumento das defesas antioxidantes nos tecidos dos animais (MENEZES et al., 2012). Outro experimento envolvendo a adição de (PhSe)<sub>2</sub> na dieta de codornas, demonstrou um incremento da atividade antioxidante e, conseqüentemente, uma melhora na qualidade da carne devido a redução do processo de oxidação no músculo (ROZA et al., 2018).

Devido à escassez de estudos toxicológicos do (PhSe)<sub>2</sub>, uma pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar a distribuição tecidual e toxicidade deste elemento em ovinos. Os pesquisadores observaram que os eritrócitos retêm melhor o (PhSe)<sub>2</sub>, e que ocorre uma liberação lenta do selênio contido nessas células para o plasma e para outros tecidos, além disso não foram observados sinais de toxicidade para a espécie (LEAL et al., 2018). A realização deste estudo de toxicidade permitiu a administração do (PhSe)<sub>2</sub>, em ovelhas leiteiras cujos resultados demonstraram a capacidade de modulação das reações oxidativas e resposta inflamatória, contribuindo para a saúde dos animais, além de desencadear aumento na gordura do leite e na capacidade antioxidante deste, levando a redução na oxidação da proteína e a produção de leite com propriedades nutracêuticas (BIAZUS et al., 2018).

A importância do selênio também tem sido evidenciada pelo incremento no sistema imunológico (BROWN & ARTHUR, 2001). Em trabalho realizado para avaliar

a suplementação com selênio e vitamina E (intramuscular) em cordeiros infectados por *Haemonchus contortus*, não observou-se incremento proteico e imune quando os animais estavam severamente infectados. Porém, nos cordeiros saudáveis, a suplementação com selênio e vitamina E promoveu aumento nos teores de proteínas séricas e melhorou a resposta imune animal, bem como aumentou o poder antioxidante contra infecção causada por *Haemonchus contortus* (LEAL et al., 2010).

Entretanto, ainda não existem trabalhos que utilizaram o disseleneto de difenila (PhSe)<sub>2</sub> na espécie bovina. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito metafilático do (PhSe)<sub>2</sub> na saúde de bezerras holandesas do nascimento até o desmame.

### 3 ARTIGO

Artigo a ser submetido ao periódico *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*.

#### **Does diphenyl diselenide increase the weight gain and immunity of Holstein calves?**

Cláudia Medeiros Rodrigues<sup>1</sup>, Marla Schneider<sup>2</sup>, Juliana Sorraia de Oliveira<sup>1</sup>, Silvana Giacomini Collet<sup>3</sup>, Giovana Camillo<sup>3</sup>, Marta Maria Medeiros Frescura Duarte<sup>4</sup>, João Batista Teixeira da Rocha<sup>1</sup>, Cinthia Melazzo de Andrade<sup>1</sup>, Maiara Garcia Blagitz<sup>2</sup>,  
Marta Lizandra do Rêgo Leal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Brazil.

<sup>2</sup>Federal University of Southern Border (UFFS), Realeza, Brazil.

<sup>3</sup>University of the West of Santa Catarina (UNOESC), Xanxerê, Brazil.

<sup>4</sup>Lutheran University of Brazil (ULBRA), Santa Maria, Brazil.

#### **ABSTRACT**

The objective of this work was to evaluate the metaphylactic effect of diphenyl diselenide (PhSe)<sub>2</sub> on the health of Holstein calves from birth to weaning. Twenty female Holstein calves from birth to seventy days old were used, distributed in two groups of 10 animals. The diphenyl diselenide group (DDG) received 1.5 µmol/kg of (PhSe)<sub>2</sub> diluted in 2 mL of dimethylsulfoxide (DMSO) subcutaneously (SC), while the control group (CG) received only DMSO in the same volume, SC. The applications were performed on days 7, 21, 35 and 49 of life. Clinical evaluations, weighing and sample collection were performed on the same administration days, with a final evaluation on day 70. Higher values of weight and mean daily weight gain (MDWG) were observed at day 70 in DDG compared to CG ( $p < 0.05$ ). At weaning (70 days) DDG presented an average of 7.7 kg more than CG. However, for the variables incidence of diseases, serum protein, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), glutathione peroxidase (GPx) and oxidative metabolism and neutrophil phagocytosis no significant differences were



observed between the groups ( $p > 0.05$ ). With respect to immunoglobulin G (IgG), except for day 7, higher levels were detected in the DDG compared to the CG ( $p < 0.05$ ), and within the DDG the calves showed a gradual increase of IgG throughout the experimental period. The results allow us to affirm that metaphylaxis with  $(\text{PhSe})_2$  increases the weight gain and immunity of Holstein calves from the neonatal period to weaning.

**Keywords:** immunity, immunoglobulin G, oxidative metabolism, selenium.

## INTRODUCTION

The neonatal period is considered a critical stage in the creation of dairy calves, because the management to which they are subjected during this stage will imply throughout all their productive life, significantly influencing their future performance (SANTOS, DAMASCENO & KAZAMA et al., 2010).

Ruminants are born without adequate humoral immunity due to the sinepiteliocorial placenta, which protects the fetus against infections by viruses and bacteria, but prevents the passage of immunoglobulins that would migrate from the maternal to fetal circulation (PRESTES & LANDIM-ALVARENGA, 2006). This way, newborns rely on the passive transfer of maternal colostrals immunoglobulins (VOGELS et al., 2013).

When transfer of passive immunity is not properly realized, makes these animals more susceptible to disease occurrence (GODDEN, 2008), which are responsible not only for mortality, but also for the loss and/or lower weight gain of the surviving calves (BEAM et al., 2009). It is also worth mentioning that the metabolic stress triggered by weaning, can result in oxidative stress (MORAES et al., 2002).

Oxidative stress is a result of excess production of reactive oxygen or nitrogen species, or of the organism's deficient antioxidant capacity (GASCHLER & STOCKWELL, 2017). Acting in the protection against reactive species, we have the antioxidants, which can act preventing their formation (BARBOSA et al., 2010), intercepting the reactive species and preventing their action (ELLAH, 2010).

Among the essential micronutrients, selenium deserves to be highlighted, since it is an integral part of the glutathione peroxidase enzyme (GPx) (NOGUEIRA et al., 2004). Its importance has also been observed by the ability to increase the immune response (BROWN & ARTHUR, 2001).

Among the selenium forms, diphenyl diselenide (PhSe)<sub>2</sub> has been used in research due its diverse pharmacological properties (NOGUEIRA et al., 2004), being used in the study of the control of several diseases, by mimicking the activity of GPx (MEOTTI et al., 2004). The (PhSe)<sub>2</sub> demonstrated antioxidant properties in the tissues of fish submitted to herbicide exposure (MENEZES et al., 2012) and, in quails, improved the quality of the meat (ROZA et al., 2018).

In sheep a study performed to evaluate the distribution of (PhSe)<sub>2</sub> in tissues and plasma, showed that erythrocytes retain (PhSe)<sub>2</sub> and realized their release to plasma and other tissues. The researchers did not observed any signs of toxicity to the species (LEAL et al., 2018). When used in sheeps with milk aptitude demonstrated the modulation capacity of oxidative reactions and inflammatory response (BIAZUS et al., 2018).

However, there is still no work with diphenyl diselenide in the bovine species, in that way we believe that metaphylaxis with this compound improves the health of calves from the neonatal period to weaning.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Ethics committee on animal use**

The experimental protocol was approved by the Ethics Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM), under the number 6250070518.

### **Place and period of execution**

The experiment was conducted at the Kapakeffa farm, located in the municipality of Xanxerê (26° 52' 37" S e 52° 24' 14" O), State of Santa Catarina, Brazil, from February to May 2018.

### **Animals**

For the study twenty Holstein calves (n = 20) were used from birth to seventy days of age. The newborn calves were housed in individual stalls, and in the first six hours of life, ingested two liters of colostrum, supplied through a bottle, or through a nasogastric tube when necessary (quality evaluated using a Brix refractometer, considering the limit of 21% as indicative of immunoglobulin concentration > 50 mg/mL, that is, high quality colostrum). After ingestion of colostrum, the calves started to received, in bottles, a total

of six liters of milk at 37°C, previously pasteurized at 72°C, fractionated twice a day, in addition to water and concentrate *ad libitum*. The nutritional and chemical composition of the concentrate is shown in Table 1.

At ten days of age, they were relocate in collective stalls, in groups of 10 animals, where they started to receive Tifton 85 hay (*Cynodon* spp.) (10.5% crude protein) and had access during the day to an area of picket with pasture of *Cynodon* spp. Breastfeeding started to be by automatic system, by reading the identification earring, and there was a gradual reduction in the quantity supplied, according to the weight and age group presented. The calves remained in this place until weaning, performed at seventy days of life, also corresponding to the end of the experimental period.

### **Experimental design**

The twenty animals were evenly distributed in two homogeneous groups containing 10 animals, according to body weight at birth. The diphenyl diselenide group (DDG) received 1.5 µmol/kg of diphenyl diselenide, presented in a powder formulation with 98% purity and molecular weight of 312.13 g/mol, diluted in 2 mL of dimethylsulfoxide (DMSO), subcutaneously (SC) (LEAL et al., 2018). While the control group (CG) received only DMSO, in the same volume used in DDG and by the same route of administration. The administrations occurred at intervals of 14 days, beginning on day 7, and were later performed on days 21, 35 and 49.

### **Clinical evaluation**

The clinical evaluations were performed on days 7, 21, 35, 49 and 70. The females were submitted to weighing by means of tape, besides being monitored for the health of the batch through realization of the general physical examination and the detection of the occurrence of diseases, using the methodologies described by DIRKSEN, GRÜNDER E STÖBER (1993) e TEIXEIRA et al., (2014), respectively.

### **Sample collection and laboratory tests**

The blood samples were collected at the same time of the clinical evaluation by jugular venipuncture with a Vacutainer® coupled system in vacuum tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and sodium heparin (5 and 10 mL, respectively), as well as a tube without anticoagulant (10 mL).

Serum protein values were determined by the use of a refractometer. Immunoglobulin G (IgG) determination was performed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the manufacturer's instructions (Bovine IgG ELISA Kit, Cat. No. E11-118, Bethyl Laboratories, Montgomery, USA).

Lipid peroxidation was measured by production of thiobarbituric acid reactive species (TBARS) as described by OHKAWA et al., (1979). While the activity of the glutathione peroxidase (GPx) enzyme was determined in a Randox® branded automated biochemical analyzer (RX Daytona® model) using commercial Randox® kit according to the technique described by PAGLIA & VALENTINE (1967).

The functional activity of neutrophils was evaluated by means of a nitroblue tetrazolium reduction test (NBT) stimulated or not with Zymosan particles (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA), according to the cytochemical method described by PARK & GOOD (1970), counting one hundred neutrophils in each of the blood smears stained under an optical microscope with immersion objective (100 x).

For stimulated NBT and non-stimulated NBT, were considered positives neutrophils that reduced nitroblue tetrazolium, that is, neutrophils that presented violaceous or blackened cytoplasmic granules (formazan crystals), regardless of the number and size of the granulations. In the stimulated technique, the neutrophils that presented Zymosan particles inside were considered positive for phagocytosis.

### **Statistical analysis**

The data were submitted to the Kolmogorov-Smirnov normality test. For not presenting normal distribution, the functional activity of neutrophils was previously submitted to logarithmic transformation ( $\log_{10} X + 1.5$ ). The variables were submitted to two - way analysis of variance (ANOVA) with repeated measures, followed by Tukey 's tests, to compare the average between the moments within the groups, and Bonferroni, to compare the average of the moments between the groups.

The results were presented in average with their respective standard errors. To evaluate the occurrence of diseases, the unpaired T test was used and the data are arranged in a descriptive way. The level of significance used was 5% ( $p < 0.05$ ). Statistical analyzes were performed using the GraphPad Prism 6® program.

## RESULTS

### Weight and average daily weight gain

The results of weight and mean daily weight gain (MDWG) are shown in Figures 1a and 1b. Higher values of weight and MDWG were observed on day 70 in DDG compared to CG ( $p < 0.05$ ). Within the groups, a gradual increase in weight was observed throughout all the experimental period (Figure 1a).

In MDWG, was observed the reduction of values on day 7 to day 21 in CG, but on days 35 and 49 there was an increase in MDWG in this group ( $p < 0.05$ ). In the DDG, the same reduction in MDWG was observed at 21 days followed by an increase in values ( $p < 0.05$ ) on days 49 and 70.

In addition, at 70 days of age, date when weaning and the end of the experimental period occurred, DDG animals had a mean gain of 7.7 kg over CG.

### Occurrence of diseases

Regarding the occurrence of diseases, there was no significant difference between groups. On day 7, 70% of the CG animals presented diarrhea, 20% pneumonia and 10% of the calves did not present any clinical alterations, while 50% of the DDG animals presented diarrhea, 20% pneumonia and 30% did not show any type of disease.

At 21 days, 40% of CG animals presented diarrhea, 30% pneumonia and 30% showed no organic change. However, none of the DDG animals presented disease occurrence. In the 35-day evaluation, it was observed in CG the occurrence of pneumonia in 30% of the animals, combined diarrhea and pneumonia in 10% of the calves, and 60% of the animals did not present clinical alteration. At the same experimental time, 40% of the DDG animals presented pneumonia and 60% had no disease occurrence.

At day 49, 10% of CG animals had pneumonia, while the rest of the animals (90%) showed no organic change. In the DDG 10% of the animals presented diarrhea, 10% pneumonia and 80% of the animals were healthy. The last moment of evaluation (70 days) was marked by the absence of alterations (100%) in the DDG. In the CG, 20% of the animals presented pneumonia and the remainder (80%) had no clinical change.

### Protein

There was no difference in total protein between the experimental groups. In CG, there was an increase in serum protein (Figure 1c) ( $p < 0.05$ ) between days 21 and 70,

and 35 and 70. In DDG, except for day 49, total protein values were higher on day 70 ( $p > 0.05$ ) in relation to the other times studied.

### **Immunoglobulin G (IgG)**

With the exception of day 7, higher IgG levels were observed in DDG compared to CG (Figure 1d). Within the DDG it was observed that the calves showed a gradual increase of IgG throughout all the experimental periods ( $p < 0.05$ ). However, within the CG there was a reduction in the values of this variable in the experimental animals from 7 to 70 days ( $p < 0.05$ ).

### **Substances reactives to thiobarbituric acid (TBARS)**

Serum TBARS values are shown in Figure 1e. There was no difference between the experimental groups and between the moments within each group ( $p > 0.05$ ).

### **Glutathione peroxidase (GPx)**

The mean values of GPx can be visualized in Figure 1f. There was no difference in the activity of this enzyme between the experimental groups ( $p > 0.05$ ). In CG, higher GPx values were detected on day 7 in relation to days 35, 49 and 70 ( $p < 0.05$ ), as occurred between days 21 and 70 ( $p < 0.05$ ). While in the DDG greater activity of this enzyme was observed on day 7 compared to day 70 ( $p < 0.05$ ).

### **Oxidative metabolism and neutrophil phagocytosis (NBT)**

There was no difference in oxidative metabolism and phagocytosis of the neutrophils in the stimulated technique, between the groups, and within the experimental groups (Table 2).

In the non-stimulated technique no significant values were observed between the groups, and within the DDG. However, in the control group, higher values of negative neutrophils (non-stimulated technique) were detected on day 7 compared to day 70 ( $p < 0.05$ ).

Still in the non-stimulated technique the neutrophils positive for NBT, that is, those that presented the formazan crystal inside, had higher values ( $p < 0.05$ ) on day 70 compared to those obtained on day 7 in the CG.

## DISCUSSION

Selenium (Se) is a trace element that plays an important role in the health and performance of animals. In the present study we observed that the administration of  $(\text{PhSe})_2$  increased the weight and the MDWG in the calves at the end of the experimental period and at the time of their weaning (70 days), where, usually, weight loss and greater occurrence of diseases occur. Among the many selenoproteins existents in the body, 5-iodothyronine deiodinase is fundamental in the activation of triiodothyronine (T3) in tetraiodothyronine (T4), whereas it, T3 is known to be widely involved in growth and weight gain mechanisms (THOMPSON et al., 1995).

GUYOT et al., (2007) reported the importance of Se in Belgian Blue calves, since these animals are characterized by the "double muscle", that way, they have a higher demand for Se. In this work, the authors supplemented cows with 0.5 ppm of Se enriched yeast and observed an increase in the growth rate of calves, thus demonstrating the importance of Se administration in animal performance.

As we obtained significant results for these variables and did not observe the occurrence of oxidative stress, we believe that the calves had adequate Se concentrations. In this way, the  $(\text{PhSe})_2$  that was conjugated to the erythrocytes (LEAL et al., 2018) was released into the plasma and tissues and reached the places where there was greater demand, increasing the activity of 5-iodothyronine deiodinase and, consequently, the weight gain of the animals.

According to MCGUIRK (2008), the factors that can significantly alter morbidity and mortality rates are related to the age of the animals, the transfer of passive immunity, the management used in the farms, types of housing, season, country, region and origin of the data. Being the cases of enteritis and pneumonia considered the most commonly linked to cases of death in dairy calves.

Regarding the occurrence of diseases, TEIXEIRA et al., (2014), reported effect of treatment with minerals in reducing cases of diarrhea, e GUYOT et al., (2007), observed a reduced incidence of diseases during the first two weeks of life in calves whose mothers were supplemented with Se enriched yeast. However, in our study we did not observe the influence of  $(\text{PhSe})_2$  administration for this variable. The different results found for the occurrence of calves diseases from birth to weaning may be related to the factors mentioned above.

Se is also involved in the regulation of pinocytosis, promoting the absorption of immunoglobulins (KAMADA et al., 2007), that way deficiency frames may affect IgG levels and T cell function, leading to a higher prevalence and severity of diseases (ARTHUR, MCKENZIE & BECKETT, 2003).

The ability to improve the immune response of animals through the administration of Se (organic and inorganic) is already established in the literature (CHAUHAN et al., 2014), since its supplementation assists in the phagocytic activity of macrophages (SALLES et al., 2014). It can also be attributed to its antioxidant properties enhancements in the functions of the humoral and cellular immune system (TEIXEIRA et al., 2014).

In our study, we observed a significant increase in immunoglobulin G levels in calves since the second administration of  $(\text{PhSe})_2$ , while in the control group animals the serum IgG concentrations decreased dramatically over the experimental period.

Regarding serum protein values, there was no difference between the groups. As in a study carried out by MENEZES et al., (2016), the authors also did not detect influence of supplementation on total protein levels in carps fed with diet counting  $(\text{PhSe})_2$  and that presented oxidative stress by exposure to fipronil.

TBARS is one of the byproducts of lipid peroxidation (OHKAWA et al., 1979), thus, the non-alteration of its values, along the experimental period, represents, indirectly, the absence of oxidative stress. Which justifies the stable values in GPx activity, since there was no increase in the production of reactive species.

However, MENEZES et al., (2016), detected reductions in TBARS levels in the liver, gills, brain and carp muscle exposed to fipronil. As ROZA et al., (2018), observed the reduction of lipid peroxidation in serum, liver and quail muscle when used  $(\text{PhSe})_2$ . In this same study the authors reported a significant increase in GPx activity.

It is important to emphasize that the molecular pharmacology of  $(\text{PhSe})_2$  is possibly linked to a "nonspecific antioxidant mechanism", where transient formation of benzeneselenol plays a central role (NOGUEIRA & ROCHA, 2010). Thus different results can be explained because, although the concentration of Se in the whole blood is correlated with the activity of GPx (BRIGELIUS-FLOHE et al., 1994), there is evidence that the percentage in erythrocytes associated with GPx can vary depending on the source of Se (VAN RYSSSEN et al., 1989). Therefore, we can assume that another enzyme has more affinity with  $(\text{PhSe})_2$  than GPx. It is also worth mentioning that in one of the studies mentioned above the animals were previously submitted to non-endogenous ER



formation and presented oxidative stress, which probably required a higher activity of the antioxidant system. (MENEZES et al., 2016).

The phagocytosis process carried out by the neutrophil is an important defense mechanism of the host against invading microorganisms, and the production of oxidative substances in its interior, which occurs through the increase of respiratory activity, is fundamental for the adequate efficiency of this process (TIZARD, 2014).

The neutrophils of newborn calves have a low response capacity to the NBT test (COSTA et al., 2004), but along the age changes occur, with increased oxidative capacity during the first four months of life (COSTA et al., 2008). We did not observe influence of administration of (PhSe)<sub>2</sub> on oxidative metabolism and neutrophil phagocytosis between groups in the stimulated and non-stimulated techniques. However, CAMARGO et al. (2010) observed, in adult sheep, experimentally infected with *Haemonchus contortus*, that supplementation with Se was able to promote a decrease in NBT reduction capacity in the non-stimulated technique, thus demonstrating the role of the Se in the modulation of oxidative metabolism of neutrophils.

## **CONCLUSION**

The results obtained in this study allow to affirm that diphenyl diselenete (PhSe)<sub>2</sub> metaphylaxis increases the weight gain and immunity of Holstein calves from the neonatal period to weaning.

## **CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare no conflicts of interest.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

To the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) for financial support - Financing Code 001.

## **REFERENCES**

Arthur, J. R., McKenzie, R. C. & Beckett, G. J. (2003). Selenium in the immune system. *The Journal of Nutrition*, 133(5), 1457S-1459S. doi: 10.1093/jn/133.5.1457S

- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. D. C. G., De Paula, S. O., Minim, V. P. R. & Bressan, J. (2010). Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. *Journal of Nutrition*, 23(4), 629-643. doi: 10.1590/S1415-52732010000400013
- Beam, A., Lombard, J., Koprak, C., Garber, L., Winter, A., Hicks, J. & Schlater, J. (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. doi: 10.3168/jds.2009-2225
- Biazus, A. H., Cazarotto, C. J., Machado, G., Bottari, N. B., Alves, M. S., Morsch, V. M., ... & Baldissera, M. D. (2018). Diphenyl diselenide subcutaneous supplementation of dairy sheep: effects on oxidant and antioxidant status, inflammatory response and milk composition. *Animal Production Science*, 59(3), 461-470. doi: 10.1071/AN17374
- Brigelius-Flohe, R., Aumann, K. D., Blöcker, H., Gross, G., Kiess, M., Klöppel, K. D., ... & Usani, F. (1994). Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA, and deduced amino acid sequence. *Journal of Biological Chemistry*, 269(10), 7342-7348.
- Brown, K. M. & Arthur, J. R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutrition*, 4(2b), 593-599. doi: 10.1079/PHN2001143
- Camargo, E. V., Lopes, S. T. A., Costa, M. M., Paim, F., Barbosa, C. S. & Leal, M. L. R. (2010). Neutrophil oxidative metabolism and haemogram of sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus* and supplemented with selenium and vitamin E. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5), 1-6. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.00986.x
- Chauhan, S. S., Celi, P., Ponnampalam, E. N., Leury, B. J., Liu, F. & Dunshea, F. R. (2014). Antioxidant dynamics in the live animal and implications for ruminant health and product (meat/milk) quality: role of vitamin E and selenium. *Animal Production Science*, 54(10), 1525-1536. doi: 10.1071/AN14334
- Costa, J. N., Peixoto, A. P. C., Kohayagawa, A., Ferreira, A. F. M. S. D. C., Cassetari, M. L. & Crocci, A. J. (2004). Influence of age and vitamin E supplementation (DL-alpha-tocopherol acetate) on neutrophil oxidative metabolism in Holstein friesan (*Bos taurus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 41, 293-298. doi: 10.1590/S1413-95962004000500001

- Costa, M. C., Costa Flaiban, K. K. M., Coneglian, M. M., Dognani, R., Vettorato, E. D., Balarin, M. R. S. & Lisbôa, J. A. N. (2008). Neutrophil oxidative burst in Nelore and Limousin calves in the first four months of life. *Pesq. Vet. Bras.*, 28(9), 431-436. doi: 10.1590/S0100-736X2008000900007
- Dirksen, G., Gründer, H. D. & Stöber, M. (1993). *Clinical examination of cattle* (3<sup>a</sup> ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Ellah, M. R. A. (2010). Involvement of free radicals in animal diseases. *Comparative Clinical Pathology*, 19(6), 615-619. doi: 10.1007/s00580-010-1016-3
- Gaschler, M. M. & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and biophysical research communications*, 482(3), 419-425. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086
- Godden, S. (2008). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 19-39. doi: 10.1016/j.cvfa.2007.10.005
- Guyot, H., Spring, P., Andrieu, S. & Rollin, F. (2007). Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *Livestock Science*, 111(3), 259-263. doi: 10.1016/j.livsci.2007.04.018
- Kamada, H., Nonaka, I., Ueda, Y. & Murai, M. (2007). Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5665-5670. doi: 10.3168/jds.2007-0348
- Leal, M. L. R., Rocha, J. B. T., Corte, C. L. D., Aires, A. R., Rocha, J. F. X., Zanatta, R. S., ... & Pivoto, F. L. (2018). Distribution of selenium in sheep treated with diphenyl diselenide. *Brazilian Archives of Veterinary Medicine and Zootechnics*, 70(4), 1017-1022. doi: 10.1590/1678-4162-9790
- McGuirk, S. M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 139-153. doi: 10.1016/j.cvfa.2007.10.003
- Menezes, C. C., Leitemperger, J., Santi, A., Lopes, T., Veiverberg, C. A., Peixoto, S., ... & Loro, V. L. (2012). The effects of diphenyl diselenide on oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* exposed to herbicide quinclorac (Facet®). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 81, 91-97. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.04.022

- Menezes, C., Leitemperger, J., Murussi, C., Souza Viera, M., Adaime, M. B., Zanella, R. & Loro, V. L. (2016). Effect of diphenyl diselenide diet supplementation on oxidative stress biomarkers in two species of freshwater fish exposed to the insecticide fipronil. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(5), 1357-1368. doi: 10.1007/s10695-016-0223-5
- Meotti, F. C., Stangherlin, E. C., Zeni, G., Nogueira, C. W. & Rocha, J. B. T. (2004). Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation. *Environmental Research*, 94(3), 276-282. doi: 10.1016/S0013-9351(03)00114-2
- Moraes, S. D. S., Thiago, L. D. S., Macedo, M. C. M. & Torres Júnior, R. D. A. (2002). Single dose of zinc as a moderating factor of metabolic stress in weaning beef cattle. *Embrapa Beef Cattle - Press Release (INFOTECA-E)*, 71, 1-4.
- Nogueira, C. W. & Rocha, J. B. (2010). Diphenyl diselenide a janus-faced molecule. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(11), 2055-2071. doi: 10.1590/S0103-50532010001100006
- Nogueira, C. W., Zeni, G. & Rocha, J. B. (2004). Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chemical Reviews*, 104(12), 6255-6286. doi: 10.1021/cr0406559
- Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358. doi: 10.1016/0003-2697(79)90738-3
- Paglia, D. E. & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1), 158-169.
- Park, B. H., & Good, R. A. (1970). NBT test stimulated. *The Lancet*, 296(7673), 616.
- Prestes, N. C., & Landim-Alvarenga, F. C. (2006). *Veterinary Obstetrics* (1<sup>a</sup> ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Roza, L. D. F., Da Silva, A. S., Migliorini, M. J., Bottari, N. B., Glombowsky, P., Baretta, M., ... & Boiago, M. M. (2018). Adding diphenyl diselenide in the diets of quails improves the quality of meat. *Revista MVZ Córdoba*, 23, 6964-6973. doi: 10.21897/rmvz.1416

Salles, M. S. V., Zanetti, M. A., Junior, L. C. R., Salles, F. A., Azzolini, A. E. C. S., Soares, E. M., ... & Valim, Y. M. L. (2014). Performance and immune response of suckling calves fed organic selenium. *Animal Feed Science and Technology*, 188, 28-35. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2013.11.008

Santos, G. T., Damasceno, J. C. & Kazama, D. C. S. (2010). *Dairy Cattle: Zootechnical, Physiological and Production Bases* (1<sup>a</sup> ed.). Maringá: Eduem.

Teixeira, A. G. V., Lima, F. S., Bicalho, M. L. S., Kussler, A., Lima, S. F., Felipe, M. J. & Bicalho, R. C. (2014). Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. *Journal Of Dairy Science*, 97(7), 4216-4226. doi: 10.3168/jds.2013-7625

Thompson, K. M., Haibach, H., & Sunde, R. A. (1995). Growth and plasma triiodothyronine concentrations are modified by selenium deficiency and repletion in second-generation selenium-deficient rats. *The Journal of nutrition*, 125(4), 864-873. doi: 10.1093/jn/125.4.864

Tizard, I. R. (2014). *Veterinary Immunology* (9<sup>a</sup> ed.). Elsevier: Brazil.

Van Ryssen, J. B., Deagen, J. T., Beilstein, M. A. & Whanger, P. D. (1989). Comparative metabolism of organic and inorganic selenium by sheep. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(5), 1358-1363. doi: 10.1021/jf00089a033

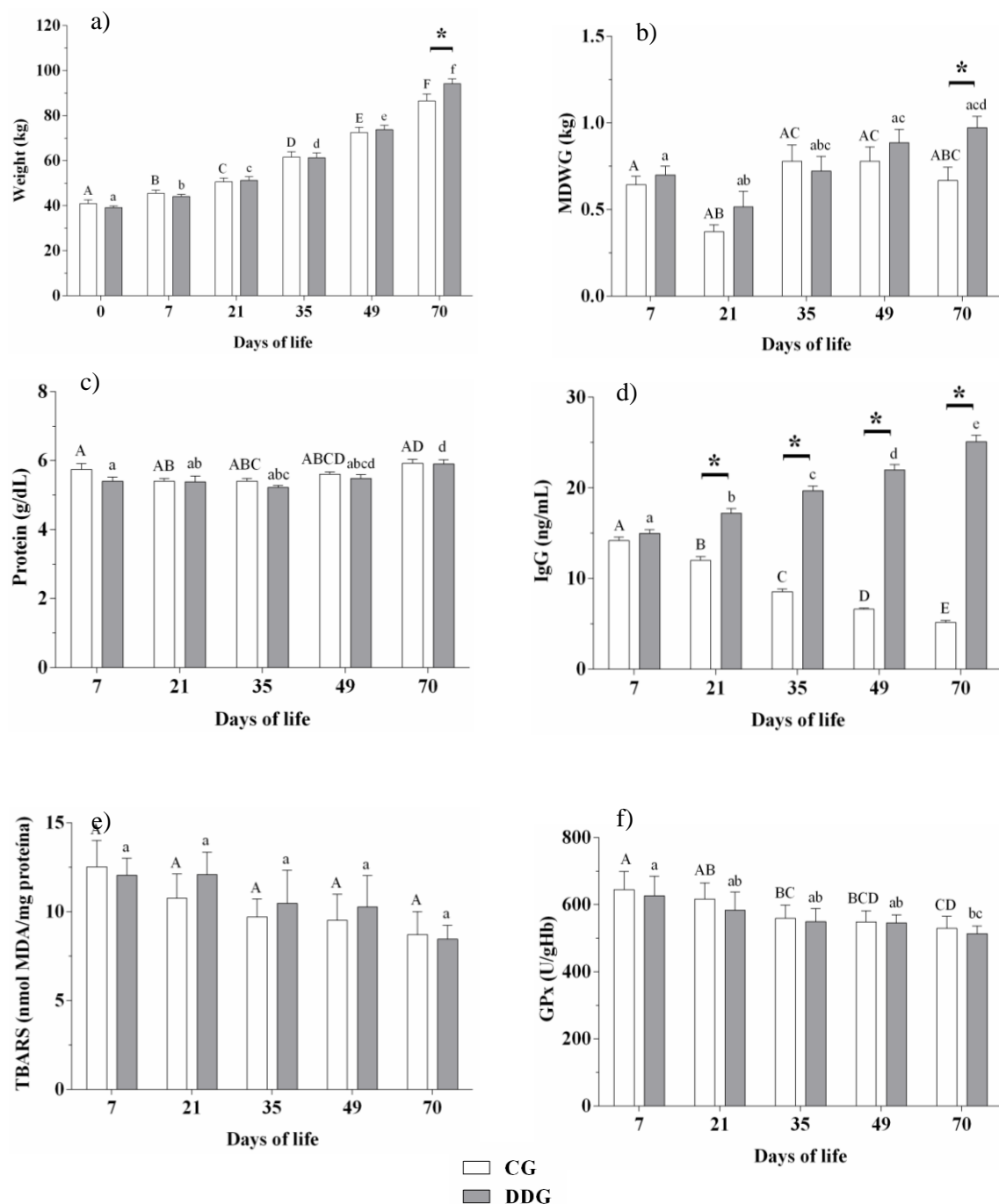
Vogels, Z., Chuck, G. M., & Morton, J. M. (2013). Failure of transfer of passive immunity and agammaglobulinaemia in calves in south-west Victorian dairy herds: prevalence and risk factors. *Australian Veterinary Journal*, 91(4), 150-158. doi: 10.1111/avj.12025

**Table 1.** Nutritional and chemical composition of the concentrate.

<b>Ingredients</b>	<b>Quantitie (% MS*)</b>
Corn bran	45,0
Soybean meal	33,0
Soybean hull	16,0
Premix <sup>1</sup>	6,0
<b>Chemical composition</b>	<b>Quantitie</b>
Dry matter (kg)	500,0
Crude protein (% MS)	22,6
Ethereal extract (% MS)	2,9
Neutral detergent fiber (% MS)	188,4
Fiber in acid detergent (% MS)	119,7

\* Dry matter (DM). 1 Composition of premix: calcium (135-165 g/kg), phosphorus (70 g/kg), sulfur (25 g/kg), magnesium (25 g/kg), potassium (30 g/kg), cobalt (3 mg/kg), copper (425 mg/kg), chromium (25 mg/kg), iron (1750 mg/kg), iodine (11 mg/kg), manganese (1700 mg/kg), selenium (13 mg/kg), zinc (1700 mg/kg), biotin (1.5 mg/kg), vitamin A (350000 IU/kg), vitamin D3 (25000 IU/kg), pantothenic acid (126 mg/kg), vitamin B1 (50 mg/kg), vitamin B6 (60 mg/kg), vitamin B12 (1.11 mg/kg), choline (9000 mg/kg), niacin ( 247.50 mg/kg), riboflavin (50 mg/kg), vitamin C (6000 mg/kg), vitamin K (20 mg/kg), D-limonene (3300 mg/kg), *Saccharomyces cerevisiae* (0.75 x 10<sup>9</sup> UFC/kg), fluorine (700 mg/kg) and bicarbonate (135 g/kg).

**Figure 1.** Average values and standard errors of **a)** weight (day 0 indicates birth weight, while day 70 weight at weaning), **b)** mean daily weight gain (MDWG), **c)** serum protein, **d)** immunoglobulin G (IgG), **e)** thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), **f)** glutathione peroxidase (GPx), of calves from the control group (CG) and treated with diphenyl diselenide (DDG). Upper case letters refer to differences ( $p < 0.05$ ) between days within the control group, while lower case letters refer to differences ( $p < 0.05$ ) between days within the group treated with diphenyl diselenide. \*represents difference between groups ( $p < 0.05$ ).



**Table 2.** Effect of treatments in the control (CG) and diphenyl diselene (DDG) groups on oxidative metabolism and phagocytosis of blood neutrophils.

Group	Days	Stimulated				Non- Stimulated	
		Negative (%)	NBT + (%)	ZYM + (%)	NBT + ZYM + (%)	Negative (%)	NBT+ (%)
CG	7	50,10 ( $\pm$ 12,03) <sup>A</sup>	14,90 ( $\pm$ 6,57) <sup>A</sup>	29,30 ( $\pm$ 10,56) <sup>A</sup>	5,70 ( $\pm$ 2,22) <sup>A</sup>	89,80 ( $\pm$ 2,24) <sup>A</sup>	10,20 ( $\pm$ 2,24) <sup>BCD</sup>
	21	49,10 ( $\pm$ 7,91) <sup>A</sup>	20,20 ( $\pm$ 4,53) <sup>A</sup>	23,20 ( $\pm$ 5,30) <sup>A</sup>	7,50 ( $\pm$ 3,02) <sup>A</sup>	77,50 ( $\pm$ 4,78) <sup>AB</sup>	22,50 ( $\pm$ 4,78) <sup>ABCD</sup>
	35	31,30 ( $\pm$ 8,12) <sup>A</sup>	29,70 ( $\pm$ 5,64) <sup>A</sup>	22,70 ( $\pm$ 4,70) <sup>A</sup>	16,30 ( $\pm$ 3,77) <sup>A</sup>	76,00 ( $\pm$ 7,66) <sup>AB</sup>	24,00 ( $\pm$ 7,66) <sup>ABC</sup>
	49	47,20 ( $\pm$ 9,26) <sup>A</sup>	19,20 ( $\pm$ 6,75) <sup>A</sup>	25,20 ( $\pm$ 5,83) <sup>A</sup>	8,40 ( $\pm$ 2,33) <sup>A</sup>	74,30 ( $\pm$ 6,64) <sup>AB</sup>	25,70 ( $\pm$ 6,64) <sup>AB</sup>
	70	44,50 ( $\pm$ 10,61) <sup>A</sup>	22,50 ( $\pm$ 7,42) <sup>A</sup>	25,80 ( $\pm$ 8,89) <sup>A</sup>	7,40 ( $\pm$ 2,45) <sup>A</sup>	61,20 ( $\pm$ 8,31) <sup>B</sup>	38,80 ( $\pm$ 8,31) <sup>A</sup>
DDG	7	40,10 ( $\pm$ 8,22) <sup>a</sup>	11,90 ( $\pm$ 3,93) <sup>a</sup>	42,00 ( $\pm$ 8,89) <sup>a</sup>	6,00 ( $\pm$ 2,37) <sup>a</sup>	83,70 ( $\pm$ 4,63) <sup>a</sup>	16,30 ( $\pm$ 4,63) <sup>a</sup>
	21	51,10 ( $\pm$ 7,94) <sup>a</sup>	12,80 ( $\pm$ 1,97) <sup>a</sup>	26,10 ( $\pm$ 6,81) <sup>a</sup>	10,00 ( $\pm$ 4,38) <sup>a</sup>	78,90 ( $\pm$ 5,34) <sup>a</sup>	21,30 ( $\pm$ 5,36) <sup>a</sup>
	35	50,10 ( $\pm$ 9,98) <sup>a</sup>	12,00 ( $\pm$ 3,13) <sup>a</sup>	31,50 ( $\pm$ 8,43) <sup>a</sup>	6,40 ( $\pm$ 1,89) <sup>a</sup>	84,50 ( $\pm$ 2,13) <sup>a</sup>	14,90 ( $\pm$ 2,04) <sup>a</sup>
	49	50,20 ( $\pm$ 8,68) <sup>a</sup>	18,70 ( $\pm$ 2,98) <sup>a</sup>	19,70 ( $\pm$ 5,02) <sup>a</sup>	11,40 ( $\pm$ 3,84) <sup>a</sup>	67,70 ( $\pm$ 6,12) <sup>a</sup>	31,80 ( $\pm$ 6,09) <sup>a</sup>
	70	39,10 ( $\pm$ 9,48) <sup>a</sup>	29,00 ( $\pm$ 7,90) <sup>a</sup>	21,80 ( $\pm$ 5,45) <sup>a</sup>	10,10 ( $\pm$ 3,55) <sup>a</sup>	65,40 ( $\pm$ 3,55) <sup>a</sup>	34,60 ( $\pm$ 6,08) <sup>a</sup>

Results are expressed as average  $\pm$  standard error. Upper case letters refer to differences ( $p < 0.05$ ) between days within the control group, while lower case letters refer to differences ( $p < 0.05$ ) between days within the group treated with diphenyl diselenide. \*  $p < 0.05$  when compared to the difference between the control and diphenyl diselenide groups on the respective days.





#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fase que compreende o período neonatal até o desmame é considerada crítica na criação de bezerras leiteiras, pois esses animais podem ter o seu desenvolvimento afetado por vários fatores. Desde o manejo inadequado da colostragem, que pode desencadear FTIP contribuindo para a ocorrência de doenças, até o estresse metabólico desencadeado pelo desmame. Além disso o estresse oxidativo pode ocorrer associado a todos esses fatores e agravar ou contribuir para a ocorrência de doenças.

Como alternativa para abrandar os problemas que ocorrem em bezerros do nascimento ao desmame, utilizamos o disseleneto de difenila  $(\text{PhSe})_2$  que é uma molécula que possui as mesmas propriedades benéficas do selênio, porém é menos tóxica do que as demais fontes de selênio, e ainda não foi utilizada na espécie bovina. A partir dos resultados descritos nesta dissertação, verificamos que bezerras holandesas submetidas a metafilaxia com  $(\text{PhSe})_2$  apresentaram incremento significativo no peso, no ganho de peso médio diário e na imunidade, observada mediante aumento das concentrações de IgG. Dessa forma acreditamos que o  $(\text{PhSe})_2$  seja uma alternativa viável e promissora no auxílio aos desafios enfrentados pelas bezerras do período neonatal ao desmame.

## REFERÊNCIAS

- ATKINSON, D. J.; VON KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Benchmarking passive transfer of immunity and growth in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3773-3782, 2017.
- BACH, A.; FERRER, A.; AHEDO, J. Effects of feeding method and physical form of starter on feed intake and performance of dairy replacement calves. **Livestock Science**, v. 128, n. 1-3, p. 82-86, 2010.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BEAM, A. L. et al. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 8, p. 3973-3980, 2009.
- BIAZUS, A. H. et al. Diphenyl diselenide subcutaneous supplementation of dairy sheep: effects on oxidant and antioxidant status, inflammatory response and milk composition. **Animal Production Science**. v. 59, n. 3, p. 461-470, 2018.
- BIBURGER, M.; LUX, A.; NIMMERJAHN, F. How immunoglobulin G antibodies kill target cells: revisiting an old paradigm. In: Advances in immunology. **Academic Press**. v.124, p. 67-94, 2014.
- BIELMANN, V. et al. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3713-3721, 2010.
- BITTAR, C. M. M. et al. Desempenho e desenvolvimento do trato digestório superior de bezerros leiteiros alimentados com concentrado de diferentes formas físicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 1561-1567, 2009.
- BROWN, K. M.; ARTHUR, J. R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. **Public Health Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 593-599, 2001.
- CAMPOS, O. F. Criação de bezerros até a desmama In: Bovinocultura leiteira: fundamentos da exploração rural. 3. ed. Piracicaba, Fealq, v. 3, p. 77, 2000.
- CONTRERAS, G. A.; SORDILLO, L. M. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n. 3, p. 281-289, 2011.
- COSTA, M. J. R. P.; SILVA, L. C. M. **Boas práticas de manejo: bezerros leiteiros**. 1. ed. (2. rev.) Jaboticabal: Funep, 2014. 51 p.
- ELLAH, M. R. A. Involvement of free radicals in animal diseases. **Comparative Clinical Pathology**, v. 19, n. 6, p. 615-619, 2010.

FABER, S. N. et al. Case Study: Effects of colostrum ingestion on lactational performance. **The Professional Animal Scientist**, v. 21, n. 5, p. 420-425, 2005.

FEITOSA, F. L. F. et al. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas e da atividade da gama glutamil transferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 251-255, 2001.

FEITOSA, F. L. F. Importância da transferência da imunidade passiva para a sobrevivência de bezerros neonatos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 2, n. 3, p. 17-22, 1999.

GASCHLER, M. M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 482, n. 3, p. 419-425, 2017.

GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1212-1220, 2007.

GODDEN, S. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 24, n. 1, p. 19-39, 2008.

GONÇALVES, R. C. O sistema respiratório na sanidade de bezerros. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 173-189, 2009.

JEREZ, J. A. et al. Detecção de rotavírus e coronavírus em fezes de bezerros neonatos com diarreia criados em vários municípios do estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p. 19-23, 2002.

LEAL, M. L. R. et al. Distribution of selenium in sheep treated with diphenyl diselenide. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 4, p. 1017-1022, 2018.

LEAL, M. L. R. et al. Effect of selenium and vitamin E on oxidative stress in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Research Communications**, v. 34, n. 6, p. 549-555, 2010.

LOBANOV, A. V.; HATFIELD, D. L.; GLADYSHEV, V. N. Reduced reliance on the trace element selenium during evolution of mammals. **Genome Biology**, v. 9, n. 3, p. R62.1-R62.11, 2008.

MCGRATH, B. A. et al. Composition and properties of bovine colostrum: a review. **Dairy Science & Technology**, v. 96, n. 2, p. 133-158, 2016.

MCGUIRK, S. M.; COLLINS, M. Managing the production, storage, and delivery of colostrum. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 593-603, 2004.

MENEZES, C. C. et al. The effects of diphenyl diselenide on oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* exposed to herbicide quinclorac (Facet®). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 81, p. 91-97, 2012.

- MEOTTI, F. C. et al. Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation. **Environmental Research**, v. 94, n. 3, p. 276-282, 2004.
- MOORE, M. et al. Effect of delayed colostrum collection on colostral IgG concentration in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 8, p. 1375-1377, 2005.
- MORAES, S. da S. et al. Dose única de zinco como fator moderador do estresse metabólico na desmama de bovinos de corte. **Embrapa Gado de Corte - Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, n. 71, p.1-4, 2002.
- MORAES, S. da S.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Microelement deficiencies and imbalances in cattle and sheep in some regions of Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 19-33, 1999.
- NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 12, p. 6255-6286, 2004.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washinton, D. C.: National Academic Science Press, 2001. 381 p.
- PASA, C. Relação reprodução animal e os minerais. **Biodiversidade**, v. 9, n. 1, p. 101-122, 2010.
- PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. **Obstetrícia veterinária**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 241 p.
- PUPPEL, K.; KAPUSTA, A.; KUCZYŃSKA, B. The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2179-2184, 2015.
- QUIGLEY, J. D. et al. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 2, p. 1148-1155, 2013.
- REIS, A. dos S. B. et al. Onfalopatias em bezerros de rebanhos leiteiros no nordeste do estado do Pará. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, n. S, p. 29-34, 2009.
- ROZA, L. da F. et al. La adición de diseleniuro de difenilo en las dietas de codorniz mejora la calidad de la carne. **Revista MVZ Córdoba**, v. 23, n. S, p. 6964-6973, 2018.
- SANTOS, G. T.; CAVALIERI, F. L. B.; MASSUDA, E. M. Alguns aspectos econômicos e de manejo na criação de novilhas leiteiras. **Revista Balde Branco**, v. 37, n. 474, p. 56-60, 2001.
- SANTOS, G. T.; DAMASCENO, J. C.; KAZAMA, D. C. S. Criação e manejo de bezerras leiteiras. In: SANTOS, G. T.; MASSUDA, E. M.; KAZAMA, D. C. S.; JOBIM, C. C.; BRANCO, A. F. **Bovinocultura leiteira: bases zootécnicas, fisiológicas e de produção**. 1. ed. Maringá: Eduem, 2010. p. 47-78.

SHCHEDRINA, V. A. et al. Structure–function relations, physiological roles, and evolution of mammalian ER-resident selenoproteins. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 12, n. 7, p. 839-849, 2010.

STEVENS, J. B. et al. Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentrations. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 7, p. 1556-1560, 1985.

SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. 4. ed. London UK: Cabi Publishing, 2010. 565 p.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007. 582 p.

VOGELS, Z.; CHUCK, G. M.; MORTON, J. M. Failure of transfer of passive immunity and agammaglobulinaemia in calves in south-west Victorian dairy herds: prevalence and risk factors. **Australian Veterinary Journal**, v. 91, n. 4, p. 150-158, 2013.

WATSON, D. L. Immunological functions of the mammary gland and its secretion-comparative review. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 33, n. 4, p. 403-422, 1980.