

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
MEDICINA VETERINÁRIA

DANIELA CAROLINI SAVI

EFEITOS DA VACINAÇÃO SOBRE OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE
BEZERRAS LEITEIRAS

REALEZA

2024

DANIELA CAROLINI SAVI

**EFEITOS DA VACINAÇÃO SOBRE OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE
BEZERRAS LEITEIRAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof^a Dr^a . Maiara Garcia Blagitz Azevedo

REALEZA

2024

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Savi, Daniela Carolini
EFEITOS DA VACINAÇÃO SOBRE OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS
DE BEZERRAS LEITEIRAS / Daniela Carolini Savi. -- 2024.
18 f.

Orientadora: Dra. Maiara Garcia Blagitz

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2024.

1. Vacinação, Clostridiose, Eletrocardiograma,
Cortisol, Temperatura. I. , Maiara Garcia Blagitz,
orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III.
Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e Nossa Senhora, por tantas bênçãos e proteção.

Aos meus pais, que nunca mediram esforços para que eu pudesse seguir o meu sonho. Que sacrificaram suas vontades para que eu pudesse estar onde estou hoje. A eles, que sempre me mostraram o caminho do amor e da compaixão. Que nunca me deixaram desistir. Que nunca deixaram me sentir sozinha no mundo. Tudo isso é pra vocês e por vocês.

À minha irmã, que me serve de exemplo e inspiração todos os dias. Eu queria muito que você soubesse o tanto que me orgulho de ti e o quanto o teu apoio importa pra mim.

Ao meu nono Leorides, que desde pequena me ensinou sobre hombridade, caráter, bondade e compaixão. Que passou horas e horas sentado comigo contando histórias, criando laços, me ensinando sobre o amor incondicional e acima de tudo o amor e a luta pela família. O senhor era o elo que nos unia. Espero que ai do céu consiga ver eu me tornar Médica Veterinária, o senhor está sempre presente no meu coração. E também a minha amada nona Iria, que sempre me deu aquele colo de vó, me impulsionou a correr atrás dos meus sonhos e que sempre tem uma palavra de sabedoria pra dar.

Às minhas amadas Celsas. Jhulie, muito obrigada por sempre me fazer ver que as coisas não são tão ruins, que o sol sempre vai brilhar no outro dia e que eu sou merecedora de todo amor do mundo. Todos deveriam ter a chance de ver o mundo pelos teus olhos. Sarinha, obrigada por cruzar o Brasil comigo, ou só cruzar Realeza, ou só cruzar a avenida... o que importa é que você sempre esteve lá por mim. A Marinana, por sempre ter uma sopinha pra servir, um grito de felicidade pra dar e um conforto pra nos acalmar, por ter tanta bondade pra oferecer. Luisinha, obrigada por ser tão amorosa, tão preocupada, tão presente e tão amiga, sorte é de quem te tem na vida. Una pulga aventureira com o coração mais lindo do mundo. Vocês são minha família aqui, vocês sempre serão minha família depois daqui também.

Ao Deneguinha, Yasmin, Samir e Vitinho. A vida com vocês fica mais leve, mais suportável e com toda certeza mais feliz. Obrigada por não me deixarem pirar, por todas as risadas, por todo o apoio e incentivo. Obrigada por acreditarem em mim.

Ao RUB, por tantos momentos compartilhados e tanto aprendizado. Em especial ao Davi, que por tantas vezes me orientou, me ensinou e me estendeu a mão nos momentos de desespero, você tem um futuro brilhante pela frente.

A minha orientadora, Prof. Maiara, por todo o suporte durante a minha trajetória até aqui.

A Universidade Federal da Fronteira Sul, a todo o corpo docente e aos técnicos. Esse sonho é possível graças a vocês.

RESUMO

O estudo investigou o impacto da vacinação isolada e associada nos parâmetros fisiológicos de bezerras leiteiras. Utilizou-se 27 fêmeas bovinas com idades entre 6 e 12 meses, divididas em três grupos distintos. O Grupo 1 (G1) recebeu vacinas simultâneas para raiva e clostridioses, o Grupo 2 (G2) foi vacinado apenas para clostridioses, e o Grupo 3 (G3) recebeu vacinação exclusiva para raiva. Durante a vacinação, os animais foram avaliados em cinco momentos diferentes (M0= -3 dias, M1= D0 antes da aplicação, M2= D0 durante a aplicação, M3= 15 dias após e M4= 30 dias após a aplicação). As avaliações foram realizadas através de eletrocardiograma, aferição da temperatura retal (TR) e a dosagem de cortisol plasmático. Quando comparados entre os diferentes grupos vacinais, cortisol e TR não apresentaram diferença. Em contrapartida, foi possível observar diferenças significativas em relação à TR e aos níveis de cortisol em diferentes momentos da vacinação, em todos os grupos, quando analisados individualmente. No G1, foi observada diferença na TR entre o M1 e o M3, bem como entre o M3 e o M4. Em relação ao cortisol, houve diferenças entre o M0 e o M3, assim como entre o M0 e o M4. No G2 foram observadas diferenças na TR entre o M1 e o M2, M3 e M4 e no cortisol entre o M0 e o M2, o M0 e o M3, e o M0 e o M4. Já no G3, não foram observadas diferenças na TR. No entanto, em relação ao cortisol, houveram diferenças entre o M0 e o M2, assim como entre o M0 e o M4. Quanto a variabilidade de frequência cardíaca, não houveram diferenças significativas entre os grupos e momentos. Essas descobertas enfatizam a importância de compreender o estresse relacionado à vacinação, destacando que os animais podem ser vacinados simultaneamente, sem impactos negativos no desenvolvimento e saúde dos mesmos, o que facilitará de forma significativa o manejo realizado dentro da propriedade. Desta forma, a aplicação em um único momento otimiza o tempo e reduz o estresse, permitindo maior controle sanitário com uma abordagem simplificada, reduzindo custos operacionais e tornando o processo mais eficiente.

Palavras-chave: estresse, eletrocardiograma, hormônio, imunidade, manejo, vacina.

¹Graduanda do curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza. E-mail: daniela.savi@outlook.com

²Docente Efetiva do curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza. E-mail: maiara.azevedo@uffs.edu.br

INTRODUÇÃO

A vacinação é uma prática fundamental na rotina veterinária, especialmente no contexto da criação de bezerros leiteiros. Com uma ampla variedade de vacinas disponíveis, a escolha do protocolo apropriado é crucial e requer um profundo entendimento do sistema de produção leiteira (Smith, 2014). Elementos específicos de manejo, como ambiente, nutrição, histórico regional de doenças e potencial exposição a diferentes patógenos, devem ser considerados (Woolums, 2021).

Quando administradas em condições apropriadas, as vacinas proporcionam prevenção imunológica segura, eficaz e economicamente importante diante de diversas doenças infecciosas bovinas. A segurança da vacina é vital para garantir a sua eficiência e pode ser comprometida por vários fatores, incluindo o estado fisiológico e imunológico do gado vacinado (Richeson et al., 2019).

O processo de vacinação do rebanho, se feito de maneira inadequada, pode elevar o nível de estresse animal (Grunitzky et al, 2020). O estresse é caracterizado como a interrupção da homeostase, resultando em uma resposta fisiológica e comportamental em decorrência a um estímulo nocivo ou de ambiente em condições adversas. Esse mecanismo poderá causar alterações metabólicas, endócrinas e cardiovasculares, controladas pelo sistema nervoso autônomo (Borell, 2007).

O monitoramento da ação do sistema nervoso autônomo (SNA) em respostas fisiológicas ao estresse pode ser mensurado através do eletrocardiograma, realizado através da captação contínua da frequência cardíaca (FC) e da variabilidade da mesma (VFC). O eixo vagal do SNA é quem regula a FC e a VFC em decorrência ao estresse, visto que a alteração dos parâmetros do VFC é um dado preciso e imediato quando comparado às alterações do nível de cortisol (Després et al., 2002).

Outro indicativo muito utilizado na avaliação do bem estar animal são as alterações da concentração de hormônios adrenocorticais, sendo o cortisol o mais utilizado em ruminantes (Broom, Fraser, 2007). Os níveis elevados de cortisol podem suprimir a resposta imunológica do organismo frente a microrganismos. Esse fato pode prejudicar a produção de anticorpos e reduzir a eficiência da vacinação, o que aumenta a susceptibilidade às doenças infecto-contagiosas (Tizard, 2002).

Um dos efeitos pós-vacinais é a hipertermia. O aumento da temperatura inicialmente beneficia o organismo ao potencializar a imunidade tanto inata quanto adaptativa. Isso ocorre

devido à elevação na proliferação de linfócitos e na produção de anticorpos (Evans, et al. 2015). Além disso, cria um ambiente menos propício para a multiplicação do patógeno, já que altas temperaturas reduzem as chances de proliferação do microrganismo (Kluger, 1991).

Portanto, o objetivo do estudo foi mensurar o nível de cortisol plasmático, a temperatura retal e a variabilidade de frequência cardíaca durante a vacinação para raiva e clostridioses, em protocolo isolado ou simultâneo.

MATERIAL E MÉTODOS

Aprovação ética

O presente estudo foi submetido e aprovado (nº 9609270223) pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

Animais utilizados e delineamento experimental

Foram utilizadas 27 bezerras da raça Holandesa de uma fazenda comercial do sudoeste do Paraná, respeitando os seguintes critérios de inclusão:

- a) Idade entre 06 e 12 meses;
- b) Animais que não foram tratados com antimicrobianos e/ou antiinflamatórios nos 15 dias que antecederam o início do experimento, de acordo com ficha de acompanhamento de cada bezerra da propriedade;
- c) Animais que não receberam quaisquer tipos de vacinas nos 90 dias que antecederam o início do experimento;
- d) Animais sem histórico de enfermidades recentes

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: no Grupo 1 (G1) as bezerras foram vacinadas contra clostridioses (STARVAC LABOVET®) e raiva (VACINA ANTIRRÁBICA INATIVADA LABOVET®) simultaneamente; no Grupo 2 (G2) foram vacinadas contra clostridioses e no Grupo 3 (G3) vacinadas contra raiva. Os dados e materiais foram coletados durante quatro semanas em cinco momentos distintos (M): três dias antes da aplicação da vacina (M0); no dia da vacina, antes da aplicação (M1); no dia da vacina, durante a aplicação (M2); 15 dias após a aplicação (M3); 30 dias após a aplicação (M4). Os animais avaliados passaram por exame clínico prévio, pesagem, avaliação nutricional, análise do histórico de vacinação e doenças.

Os animais da população investigada pertenciam à mesma propriedade, eram mantidos em sistema compost barn e divididos em lotes de acordo com a idade. A cama é movimentada por tratores uma vez ao dia. A alimentação é realizada duas vezes ao dia, sendo fornecido feno, silagem e ração, e água *ad libitum*.

Para o processo de vacinação, as bezerras foram capturadas e contidas utilizando cordas e cabrestos. As mesmas foram vacinadas homogeneamente, em mesmas condições de ambiente, temperatura, horário e manejo, para que os efeitos ambientais sejam os mesmos para todos os animais, sem interferir no resultado. Todo o processo foi realizado por colaboradores previamente treinados.

Vacinação

Os animais foram vacinados na região da tábua do pescoço, em via subcutânea, tanto para raiva quanto para clostridiose, conforme recomendação do fabricante.

Exame eletrocardiográfico

A eletrocardiografia convencional foi realizada por um colaborador treinado, através do registro eletrocardiográfico de dois minutos, utilizando o dispositivo eletrocardiográfico de 12 derivações (InCardio da InPulse Animal Health®). Após a monitorização, todo o traçado foi revisado e os primeiros 20 intervalos R-R com ritmo cardíaco sinusal selecionados para a análise da variabilidade da frequência cardíaca. Através do software InCardio Duo, foi gerado o gráfico de Pointcaré, construído a partir dos valores dos intervalos RR obtidos, onde cada ponto é representado no eixo x (horizontal) pelo intervalo RR normal precedente e, no eixo y (vertical), pelo intervalo RR seguinte. O índice cardiovagal (CVI) e o índice cardiosimpático (CSI) foram calculados automaticamente pelo *software* através das fórmulas $CVI = \log(LxT)$ e $CSI = \log(L/T)$, respectivamente.

Coleta de sangue e dosagem do cortisol plasmático

A coleta de sangue para dosagem de cortisol foi realizada por um colaborador previamente treinando, através da veia coccígea para minimizar a interferência do manejo

animal nos resultados. A amostra foi coletada em tubos estéreis, secos, de tampa vermelha, do tipo Vacutainer® com capacidade de 10 mL. Após coleta, o sangue foi acondicionado em caixas isotérmicas, em temperatura de 4° C e posteriormente levado para laboratório para centrifugação (Centrífuga Sigma 3-16L, Sigma® - Laborzentrifugen GmbH, Harz, Germany) de 5000 G por 5 minutos para obtenção do soro. O mesmo foi acondicionado em microtubos tipo Eppendorf® e congelado a -80° C para posterior dosagem através do método de quimioluminescência, conforme descrito por Grove et al., (2011).

Aferição da temperatura retal

A aferição da temperatura retal foi realizada em todos os momentos, no mesmo horário, em local com sombra, por meio da inserção de um termômetro clínico digital (Termômetro digital haste flexível - G-TECH) inserido aproximadamente 5,0 cm no reto do animal, conforme recomendado por Storti (2020).

Análise estatística

O número amostral foi calculado utilizando o *software* GPower versão 3.1.9.7. O teste de significância utilizado foi o teste F, para comparação de variâncias (no estudo em questão foram três tratamentos), também foi utilizado o teste estatístico ANOVA, para a análise da variância dos grupos. O tipo de poder de análise foi *a priori: compute required sample-given*, com base no tamanho de efeito de 0,60, a fim de definir a magnitude das diferenças entre variáveis, alfa de 0,05 (α err prob), com potência ($1-\beta$) de 0,80 e número de grupos 3.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, as variáveis paramétricas foram descritas em valores de média e desvio padrão e avaliadas por meio do teste RM One Way Anova e One Way Anova, pareado e não pareado. Em contrapartida, as variáveis não paramétricas foram descritas em medianas e intervalos interquartis (25 a 75%) e avaliadas pelo teste de Friedman (pareado) ou Kruskal-Wallis, com nível de significância de $p < 0,05$.

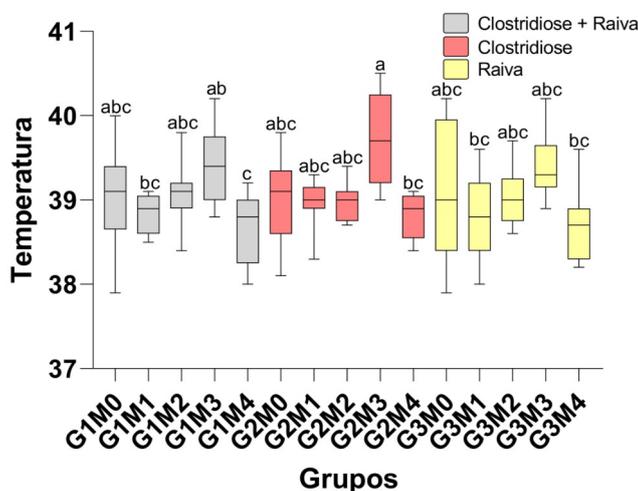
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando comparados entre os grupos, a temperatura e o cortisol não apresentaram diferença estatística, como demonstrado na Gráfico 1, demonstrando que as vacinas aplicadas e a forma como foram aplicadas (associadas ou não) desencadearam respostas fisiológicas semelhantes quanto à temperatura retal e ao cortisol nas bezerras avaliadas.

Os dados encontrados para temperatura diferem dos resultados encontrados por Pereira et al. (2021) em seu estudo sobre o efeito da vacinação simultânea contra brucelose e clostridioses na temperatura retal e local de bezerras leiteiras. Entre os diferentes tratamentos aplicados, a administração isolada das vacinas para clostridiose e brucelose+clostridiose demonstraram valores de temperatura corporal superiores após a vacinação, enquanto a aplicação para brucelose e brucelose+clostridiose apresentaram valores superiores em relação à aplicação apenas para clostridiose.

Quando comparado ao presente estudo, essa discrepância nos resultados pode ser atribuída ao tipo de vacina aplicada. As vacinas para clostridiose e raiva são inativadas, enquanto a de brucelose é atenuada. Vacinas atenuadas geralmente induzem uma melhor resposta celular e humoral, o que pode resultar em um maior aumento de temperatura corporal, resultante do processo inflamatório associado à resposta imune do animal (Christensen, 2016)

Gráfico 1- Temperatura Retal

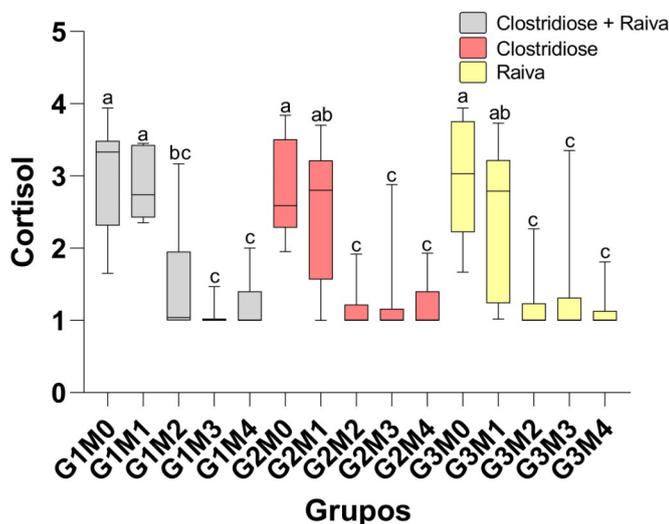


Fonte: SAVI, 2024

Conforme destacado por Woolums (2021), é importante ressaltar que qualquer protocolo vacinal eficaz desencadeará uma resposta imunológica e, por conseguinte, uma resposta inflamatória. Caso contrário, a vacina não estará atingindo seu propósito de promover a resposta imune desejada. Os resultados obtidos indicam que houve variações de temperatura em resposta à vacinação, apresentando um padrão semelhante em todos os grupos, como demonstrado no Gráfico 1.

Segundo Grandim (1998), os bovinos são animais que possuem boa memória e adaptação a rotinas estabelecidas, conseguindo se adaptar aos tratadores e a forma em que o manejo é realizado. No entanto, a vacinação não é uma atividade diária, o que a transforma em um momento estressante para os animais. Nesse sentido, o resultado encontrado para cortisol não diferiu entre os grupos vacinais, uma vez que ambos foram realizados nos mesmos dias e horários semelhantes. Sob esta perspectiva, vale lembrar que a resposta ao estresse e consequente liberação de cortisol são influenciadas pelo meio ambiente, predisposição genética e pela sensibilidade individual (Manser, 1992).

Gráfico 2- Cortisol plasmático



Fonte: SAVI, 2024

À medida que os animais se adaptaram às coletas realizadas, observou-se uma redução nos níveis de cortisol plasmático, sugerindo que o manejo envolvido na contenção para as coletas teve uma influência maior do que os próprios protocolos vacinais. Este resultado vai

de encontro com o apresentado por Maziero et al (2007) que avaliou as concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona em vacas Nelore submetidas a manejo diário ou manejo semanal. Estes autores concluíram que os resultados variam de acordo com o manejo utilizado, visto que o manejo realizado semanalmente desencadeia maior aumento de cortisol do que o diário.

É importante ressaltar a influência do estresse no sistema imune animal, o qual pode ser classificado em dois tipos, tanto em estresse agudo (<24h) quanto em estresse crônico (>24h). O estresse agudo é capaz de potencializar a resposta vacinal por estimular o sistema imune, enquanto o estresse crônico deprime a resposta imune humoral à vacinação. Contudo a interação entre a vacinação e o estresse é pouco compreendida em bovinos (Richeson et al, 2019).

No estudo de Roth (1985), foram avaliados bovinos vacinados contra bactérias causadoras de doenças respiratórias, como a *Mannheimia haemolytica*, em diferentes condições de estresse. Observou-se que animais que apresentaram níveis elevados de cortisol apresentaram uma resposta imunológica à vacinação significativamente reduzida. Em comparação com animais que tiveram níveis mais baixos de cortisol, a produção de anticorpos foi menor, comprometendo a eficácia vacinal. Diante da ausência de diferença significativa entre os grupos vacinais, a associação das vacinas torna-se uma estratégia interessante, pois coloca os animais em apenas um momento de estresse para a cobertura imunológica de mais de uma doença, diminuindo o número de manejos dentro da propriedade e promovendo o bem estar.

O mesmo é reforçado por Dahl *et al* (2020), o qual abordou a imunossupressão decorrente de estresse térmico em bovinos leiteiros. Estes autores avaliaram desde o período fetal até o lactacional desses animais, e focaram principalmente no impacto do cortisol e de outros marcadores de estresse, como a haptoglobina, que é uma proteína de fase aguda. Esse estudo destacou que o estresse causado pelo calor, resultou na elevação do cortisol plasmático e na diminuição da resposta imunológica das vacas, principalmente durante a gestação e lactação. Essa alteração impactou não só na imunidade como nos índices zootécnicos desses animais. Desta forma, o encontrado nos resultados reforça que a diminuição de manejos impactará diretamente com o futuro da bezerra leiteira, pois sairão menos vezes possível da rotina estabelecida na propriedade, com garantia de sanidade.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é um parâmetro que indica a capacidade cardíaca de resposta a estímulos ambientais e fisiológicos, dentre eles o estresse (Kovács et

al., 2012). A VFC pode ser feita através de métodos lineares e não lineares, os lineares englobam domínio de tempo e domínio de frequência, a partir da dispersão da duração dos intervalos entre complexos QRS normais (Sayers, 1993).

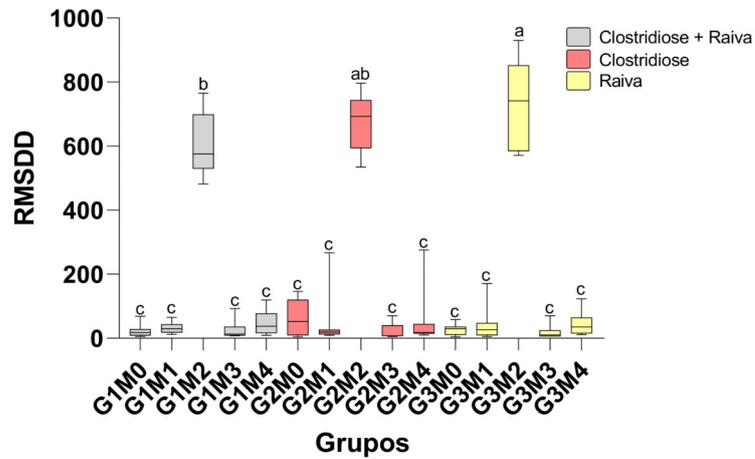
Para este estudo, foi utilizado a análise de domínio do tempo. Esse método analisa sequências das oscilações cardiovasculares através do cálculo da dispersão em torno da média da frequência cardíaca analisada. Os índices encontrados dentro do domínio de tempo são o SDNN e o RMSSD (Quevedo, 2015). A função do SDNN na VFC é avaliar a influência combinada dos sistemas nervosos simpáticos e parassimpáticos na regulação da frequência cardíaca. Já o rMSSD está relacionado especialmente do componente simpático, sobre a frequência cardíaca (Borell et al., 2007).

Em seu estudo avaliando a VFC em vacas e bezerros leiteiros com índice de bem estar, Mohr et al. (2002) apresentaram resultados em que a VFC diminuiu em casos de aumento de estresse. Estes autores concordam com Porges (1995) que avaliou a VFC durante a realização da descorna com anestesia local e observou diminuição do tônus vagal e no aumento da atividade simpática. Esses estudos vão de encontro com os resultados obtidos nessa pesquisa, onde foi demonstrado que durante o momento da vacinação a VFC diminuiu em todos os grupos.

CLAPHAM et al. (2007) observaram estresse significativo em bezerras submetidas a um modelo de desmame. Após o isolamento da mãe, mesmo mantendo o contato visual, os bezerros demonstraram uma redução no tônus parassimpático, evidenciado pela diminuição rMSSD. Observa-se que estímulos estressantes ou podem ocasionar um aumento progressivo no tônus simpático, ao mesmo tempo em que ocorre uma diminuição no tônus parassimpático. O mesmo é demonstrado na Figura 4, onde demonstra que apesar de não haver diferença entre os grupos, houve diferença entre os momentos. No M2, onde o eletrocardiograma foi feito durante o processo de aplicação da vacina, houve um aumento significativo do tônus simpático em decorrência da dor.

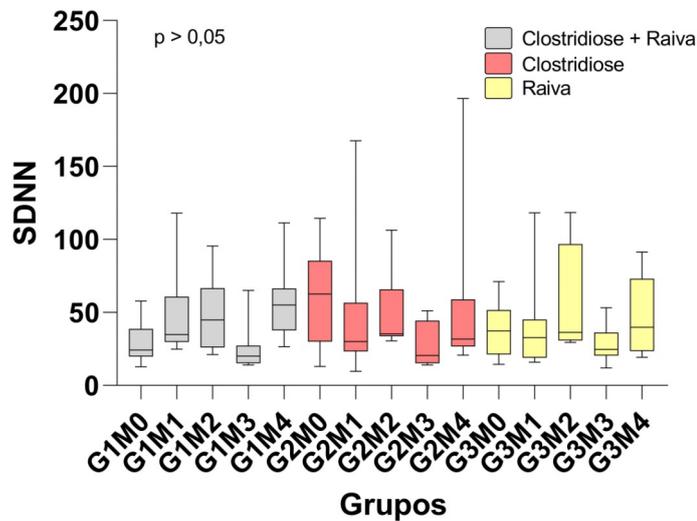
Os dados obtidos em nosso estudo não apresentaram diferença significativa entre os grupos vacinais quando comparados entre si. Desta forma, observa-se que os diferentes protocolos vacinais estabelecidos interferiram na VFC, tanto por SDNN quanto rMSSD. É necessário a realização de mais estudos em cima dessa variável para melhor compreender a influência da vacinação na atividade simpática e parassimpática.

Gráfico 3- RMSDD



Fonte: SAVI, 2024

Gráfico 4- SDNN



Fonte: SAVI, 2024

Preconizando o bem estar, faz-se necessário a implementação de um manejo racional onde o nível de estresse imprimido em decorrência da vacinação seja o mínimo possível. Cabe ao proprietário e ao médico veterinário responsável monitorar os efeitos causados para que os animais não se encontrem em situações de estresse prolongado ou com reações adversas exacerbadas.

CONCLUSÃO

A vacinação é imprescindível dentro de qualquer ramo da produção animal, servindo como forma de prevenção ao aparecimento e disseminação de doenças, que podem afetar não só o animal como os seres humanos. Deve-se garantir que o processo ocorra de forma adequada, desde o momento de aquisição do material até a aplicação do mesmo para garantir a melhor resposta imune possível.

Desta forma, essas descobertas têm implicações práticas para a otimização dos protocolos de vacinação em rebanhos leiteiros, visto que a associação das vacinas não impactou de forma negativa nos parâmetros fisiológicos das bezerras avaliadas, destacando a importância de considerar não apenas a eficácia imunológica das vacinas, mas também o impacto no bem-estar animal.

REFERÊNCIAS

- BORELL, E.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.;
MARCHANT, J.; VEISSIER, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review. **Physiology & Behavior**, v. 92, n. 3, p. 293-316, 2007
- BROOM, D. M.; FRASER, A. F. *Domestic animal behavior and welfare*. 4. ed. Cambridge: CABI, 2007.
- CHRISTENSEN, D. Vaccine adjuvants: why and how. **Hum Vaccin Immunother & Immunotherapeutics**, 2016.
- CLAPHAM, W. M.; FEDDERS, J. M.; SWECKER, W. S. J. R.; SCAGLIA, G.; FONTENOT, J. P. Heart rate variation: does it indicate stress in calves at weaning. Pennsylvania, USA, 2007.
- DAHL, G. E.; TAO, S.; LAPORTA, J. Heat stress impacts immune status in cows across the life cycle. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, 2020.
- DESPRÉS, G., VEISSIER, I., BOISSY, A. Effect of autonomic blockers on heart period variability in calves: evaluation of the sympathovagal balance. *Physiol. Res.* 51, 347-353, 2002.
- EVANS, S. S.; REPASKY, E. A.; FISHER, D. T. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nature Reviews Immunology*, v. 15, n. 6, p. 335-

349, 2015.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, v. 75, p. 249–257, 1997.

GROVE, D. S.; THOMAS, L. A.; KUHLMAN, C.. Measurement of cortisol in serum and plasma by chemiluminescent immunoassay. *Clinical Chemistry*, v. 57, n. 2, p. 245-250, 2011.

GRUNITZKY, L.; CENTENARO, J. G.; OLIVEIRA, A. G.; CHEFFER, I. M.; BRAZ, P. H. Vacinação em bovinos leiteiros: uma prática de bem-estar animal conhecida pelos produtores? *PUBVET*, v. 14, n. 6, p. 1-4, 2020.

KLUGER, M. J. Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiological Reviews*, v. 71, p. 93-127, 1991.

KOVÁCS, L.; NAGY, K.; SZELÉNYI, Z.; et al. Heart rate variability as a measure of stress in cattle: biological background, methods of measurement and results — a review. *Magy Állatorvosok Lapja*, v. 134, p. 515-523, 2012.

MANSER, C. *The assessment of stress in laboratory animals*. Hertfordshire: RSPCA, 1992.

MAZIEIRO, R. D.; MARTIN, I.; MATTOS, M. C. C.; FERREIRA, J. C. P. Avaliação das concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona em vacas nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a manejo diário ou manejo semanal. *Revista Vet. e Zootec.*, 2012.

MOHR, E.; LANGBEIN, J.; NURNBERG, G. Heart rate variability: a noninvasive approach to measure stress in calves and cows. *Physiology and Behavior*, v. 75, p. 251–259, 2002.

PEREIRA, B. P.; NETO, H. C.; LOMBARDI, M. C.; ALBUQUERQUE, B. S. F.; COMINATO, V.; RIBEIRO, A. C. K.; ... CAMPOS, S. M. Efeitos da vacinação simultânea ou não contra brucelose e clostridioses sobre a temperatura corporal e local de bezerras leiteiras. Minas Gerais, 2021.

PORGES, S. W. Cardiac vagal tone: a physiological index of stress. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 19, n. 2, p. 225–233, 1995.

QUEVEDO, D. A. C. Análise eletrocardiográfica e da variabilidade da frequência cardíaca materna, fetal e neonatal em bovinos da raça holandesa variedade preto e branco. São Paulo: FMVZ, 2015.

RICHESON, J. T.; HUGHES, H. D.; BROADWAY, P. R.; CARROLL, J. A. Vaccination management of beef cattle: delayed vaccination and endotoxin stacking. *Veterinary Clinics of*

North America: Food Animal Practice, v. 35, n. 3, 2019.

ROTH, J. A. Cortisol as mediator of stress-associated immunosuppression in cattle. In: MOBERG, G. P. (Ed.). *Animal Stress*. New York: Springer, 1985.

SAYERS, B. M. Analysis of heart rate variability. *Ergonomics*, v. 16, p. 17–32, 1993.

SMITH, J.. *O manejo no sistema de produção leiteira*. 2. ed. São Paulo: Editora Agropecuária, 2014.

STORTI, A. A. Avaliação da adaptação de bovinos da raça nelore ao ambiente tropical. 2020. 80 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

TIZARD, I. R. Vacinação e vacinas. In: *Imunologia veterinária*. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 271-274.

WOOLUMS, A. Vaccination protocols for dairy calves. In: *American Association of Bovine Practitioners Conference Proceedings*, p. 178-180, 2021.