

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

**PERFIL METABÓLICO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA
DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO, LOCAIS DE
COLHEITA E MÉTODOS DE ANÁLISE DE BETA
HIDROXIBUTIRATO.**

EMERSON ANGELO ALVARENGA

Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2013

Emerson Angelo Alvarenga

**PERFIL METABÓLICO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA DURANTE O
PERÍODO DE TRANSIÇÃO, LOCAIS DE COLHEITA E MÉTODOS DE
ANÁLISE DE BETA HIDROXIBUTIRATO.**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Clínica de Ruminantes.

Orientador: Prof. Antônio Ultimo de Carvalho.

Belo Horizonte

Escola de Veterinária da UFMG

2013

A473p

Alvarenga, Emerson Angelo, 1971 -

Perfil metabólico de vacas da raça holandesa durante o período de transição, locais de colheita e métodos de análise de beta hidroxibutirato / Emerson Angelo Alvarenga. – 2013.

86p. : il.

Orientador: Antônio Último de Carvalho

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

Inclui bibliografia

1. Vaca – Teses. 2. Holandês (Bovino) – Teses. 3. Sangue – Exame – Teses. 4. Metabolismo em animais – Teses. I. Carvalho, Antônio Último de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.214 08

Dissertação defendida e aprovada em 27 de março de 2013, pela Comissão
Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Antônio Último de Carvalho
Presidente

Dr. Euler Rabelo

Prof. Lívio Ribeiro Molina

À minha esposa Adriana, pelo amor, apoio e compreensão.

Aos meus pais,

Maria das Graças Barbosa Alvarenga e José Aparecido Alvarenga,
pelos ensinamentos da vida.

Aos irmãos, Andréa, Fabiana e Filipe, pelo carinho.

Ao amigo, Gerson Morais Quintão, pelos diálogos e intercâmbios de informações

que contribuem para a construção de conhecimento a ser utilizado com sabedoria.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Antônio Ultimo de Carvalho, mestre e amigo, pela paciência e compreensão, mas principalmente pelo incentivo e amizade.

Ao Professor Elias Jorge Facury Filho (Lobão), pelo apoio, confiança e carinho.

Ao Professor Paulo Marcos Ferreira, pela amizade e sabedoria.

Ao Professor Lívio Ribeiro Molina pela atenção, amizade e apoio em todos os momentos.

A Professora Sandra Gesteira Coelho, pelo exemplo e inspiração.

Aos colegas Gustavo Moreira e Tiago Facury Moreira pela amizade e contribuições na construção deste projeto.

A Professora Maria Ângela Quintão e a Juliana Lima pela orientação e análise estatística.

Aos colegas da Clínica de Ruminantes: Jose Azael Zambrano Uribe, Marina Ferreira, Luciele Ferreira, Julia Gomes de Carvalho, Moisés Freitas e Rodrigo Meneses pelo companheirismo, paciência e apoio.

A todos os colegas e amigos que fiz na fazenda, sem os quais esse trabalho não se concretizaria e em especial ao Paulo Henrique Garcia.

Aos estagiários: Elizabeth Hortencio, Lorenzo Costa e Delfim Antônio Medeiros que participaram para realização deste projeto.

A Universidade Federal de Minas Gerais por ter me propiciado a realização desse estudo.

A Rehagro por acreditar e ser parte da minha vida em um momento muito especial.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE UNIDADES DE MEDIDAS

LISTA DE SÍMBOLOS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Períodos de transição	18
2.1.1. Perfil metabólico	20
2.2. Metabolismo energético	20
2.2.1. Indicadores energéticos no perfil metabólico	24
2.2.2. Regulação hormonal no metabolismo energético	26
2.2.3. Atividade hepática	27
2.2.3.1. Aspartato aminotransferase (AST)	28
2.2.3.2. Lactato desidrogenase (LDH)	29
2.2.4. Colesterol	29
2.3. Cetose	30
2.3.1. Diagnóstico de cetose	32
2.4. Metabolismo proteico	36
2.4.1. Proteínas totais	36

2.4.2. Albumina	37
2.5. Metabolismo mineral	37
2.5.1. Cálcio	38
2.5.2. Fósforo	41
2.5.3. Magnésio	41
3. EXPERIMENTO 1	42
3.1. Introdução	42
3.2. Matéril e métodos	43
3.2.1. Local, período e condições climáticas	43
3.2.2. Animais	44
3.2.3. Ambiente e manejo	44
3.2.4. Coleta de material	45
3.2.5. Análises bioquímicas	46
3.2.6. Análise estatística	46
3.3. Resultados e discussão	47
3.3.1. Perfil metabólico energético	47
3.3.2. Metabolismo proteico	53
3.3.3. Enzimas hepáticas	55
3.3.4. Minerais	57
3.3.5. Resultado do perfil metabólico em análise multivariada	62
3.4. Conclusão	65
4. Experimento 2	65
4.1. Introdução	65

4.2. Material e métodos	67
4.2.1. Local e período	67
4.2.2. Animais	68
4.2.3. Ambiente e manejo	68
4.2.4. Coleta de material	68
4.2.5. Análises com aparelho portátil	68
4.2.6. Análises bioquímicas	69
4.2.7. Análise estatística	69
4.3. Resultados e discussão	70
4.3.1. Locais de colheita de sangue	70
4.3.2. Método de análise	72
4.4. Conclusão	74
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações séricas médias (mmol/L) de AGNE e BHBA de vacas multíparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.	47
Tabela 2: Concentração sérica média (mg/dL) de colesterol de vacas pluríparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.	51
Tabela 3: Concentrações séricas médias (g/dL) de proteína total e albumina de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.	54
Tabela 4: Atividades séricas médias (U/L) de AST e LDH de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.	56
Tabela 5: Concentrações séricas médias (mg/dl) de cálcio total (Ca), fósforo (P), e magnésio (Mg) de vacas multíparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.	58
Tabela 6: Comportamento das concentrações séricas médias (mg/dl) de cálcio total e frequência de hipocalcemia ($Ca < 8,5$ mg/dL) de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.	59
Tabela 7: Médias das concentrações (mmol/L) de BHBA em aparelho portátil em relação ao local de colheita em vacas de aptidão leiteira no pós-parto.	71
Tabela 8: Médias das concentrações (mmol/L) de BHBA em amostras de sangue de veia jugular de vacas leiteiras no pós-parto pelo método automático (L^1) e método com aparelho portátil (C^2).	73

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Comportamento das concentrações séricas médias (mmol/L) de AGNE e BHBA de vacas multíparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). 48
- Figura 2: Comportamento da concentração sérica média (mg/dl) de colesterol de vacas pluríparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). 52
- Figura 3: Comportamento das concentrações séricas médias (g/dl) de proteína total e albumina de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). 54
- Figura 4: Comportamento das atividades séricas médias (U/L) de AST e LDH de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). 56
- Figura 5: Comportamento das concentrações séricas médias (mg/dL) de cálcio total, fósforo e magnésio de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). 58
- Figura 6: Comportamento da concentração sérica média (mg/dl) de cálcio e frequência de hipocalcemia ($Ca < 8,5$ mg/dL) de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). 59
- Figura 7: Representação gráfica das variáveis (AGNE, BHBA, colesterol, proteína total, albumina, AST, LDH, cálcio, fósforo e magnésio) no sistema tridimensional obtida na análise multivariada em componentes principais, segundo os eixos 2 e 3. As coordenadas do eixo 1 estão registradas abaixo da sigla das variáveis no gráfico. Inércia do sistema: 57%. 63

Figura 8: Comportamento das concentrações médias (mmol/L) de BHBA em aparelho portátil em relação ao local de colheita em vacas de aptidão leiteira no pós-parto. Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas e letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste SNK ($p < 0,05$).	71
Figura 9: Comportamento das concentrações médias (mmol/L) de BHBA em amostras de sangue de veia jugular de vacas leiteiras no pós-parto pelo método laboratorial (L^1) e método a campo (C^2).	73

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AST	Aspartato aminotransferase
BEM	Balanco energético negativo
BHBA	Beta hidroxibutirato
Ca	Cálcio
DP	Desvio padrão
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
IMS	Ingestão de matéria seca
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
LDH	Desidrogenase láctica
MC 2	Método de Campo 2 (aparelho portátil)
ML 1	Método laboratorial 1 (padrão ouro)
Mg	Magnésio
MS	Matéria Seca
NRC	National Research Council
P	Fósforo
PB	Proteína bruta
pH	Potencial hidrogênio iônico
PTH	Paratormônio
sem	semana
SD	Standard deviation (desvio padrão)
1,25-(OH) ₂ D ₃	Forma ativa da Vitamina D
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade (sigla em Inglês)

LISTA DE UNIDADES DE MEDIDAS

cm	centímetro
°C	grau Celsius
g	grama
g/dL	grama / decilitro
h	hora
kg	quilograma
km	quilômetro
m	metro
min	minuto
ml	mililitro
mg	Miligrama
mg/dl	miligrama / decilitro
mm	milímetros
mmol/L	mili mol / litro
RPM	rotação por minuto
U/L	unidade internacional / litro

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
R\$	moeda Real
U\$	moeda Dólar
R ²	coeficiente de determinação
>	maior que
<	menor que
®	marca registrada

RESUMO

Estudou-se um grupo de doze vacas da raça Holandesa, três semanas pré-parto até três pós-parto, em sistema *free-stall*, localizado em Inhaúma, Minas Gerais, no período de outubro a dezembro de 2012. Avaliou-se o perfil metabólico através da concentração sérica de ácidos graxos não esterificados (AGNE), beta hidroxibutirato (BHBA), colesterol (COL), proteína total (PT), albumina (ALB), cálcio, fósforo, magnésio bem como a atividade sérica das enzimas aspartato transaminase (AST) e lactato desidrogenase (LDH). Em um grupo de seis animais, avaliaram-se quatro locais para colheita de sangue - veias jugular, mamária e coccígea e ponta de cauda - para mensuração de BHBA e comparação do método de análise eletroquímico do aparelho portátil com o método laboratorial por espectrofotometria pela química úmida. Houve diferença nas concentrações séricas de AGNE e BHBA entre o pré-parto e pós-parto ($p < 0,05$). Observou-se diminuição na concentração de COL com a aproximação do parto com posterior aumento ($p < 0,05$). As concentrações séricas dos minerais, PT e ALB não apresentaram diferenças ($p > 0,05$). A atividade enzimática de AST e LDH foram maiores no período pós-parto ($p < 0,05$). A concentração sérica de BHBA, obtida através das amostras coletadas da ponta de cauda, e veias jugular e coccígea, não diferiram ($p > 0,05$) sendo mais altas do que na veia mamária ($p < 0,05$). Não houve diferença entre os métodos de análise ($p > 0,05$). A avaliação do perfil metabólico é uma importante ferramenta de monitoramento. O aparelho portátil é eficiente na determinação de BHBA, podendo-se utilizar amostras de sangue das veias jugular e coccígea e da ponta de cauda.

Palavras-chave: cetose, aparelho portátil, monitoramento, diagnóstico, gado de leite.

ABSTRACT

Twelve dairy cows were collected between three weeks to parturition to three weeks after. They were in a *free-stall* in Inhaúma city, Minas Gerais estate between October and December of 2012. The metabolic profile was compounded with serum non-esterified fatty acids (NEFA), beta-hydroxybutyrate (BHBA), cholesterol (COL), total protein (TP), albumin (ALB), calcium, phosphorus, magnesium as well as the activity serum enzymes aspartate transaminase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH). In a group of six animals, four sites were evaluated for blood collection - jugular, mammary and coccygeal veins and tip of tail - to BHBA measurement and comparison of the method of analysis of the electrochemical handset with the laboratory method by spectrophotometry by chemical moist. There were differences in serum NEFA and BHBA between prepartum and postpartum ($p < 0.05$). There was a decrease in the concentration of COL with the approaching birth with subsequent increase ($p < 0.05$). Serum concentrations of minerals, TP and ALB did not differ ($p > 0.05$). The enzymatic activity of AST and LDH were higher in the postpartum period ($p < 0.05$). Serum BHBA measure in the samples collected from tip of tail, jugular and coccygeal did not differ ($p > 0.05$) being higher than in the mammary vein ($p < 0.05$). There was no difference between the methods of analysis ($p > 0.05$). The metabolic profile is an important monitoring tool. The handset is efficient in determining BHBA and can be used blood samples from the jugular and coccygeal veins and from the tip of tail.

Key words: ketosis, portable, monitoring, diagnosis, dairy cows.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira busca constantemente o aumento da produção com lucratividade. A combinação de melhores práticas de nutrição, reprodução, manejo, treinamento e capacitação de pessoas, melhoramento genético e instalações, promovem o aumento da produção de leite individual e no número de animais nos rebanhos. Desta forma, as fazendas mudam substancialmente e de maneira contínua, em todo o mundo. Estas mudanças são sempre desafiadoras. Os sistemas de produção visam à utilização de tecnologias e ferramentas para melhorar a eficiência, reduzem áreas de pastagem, aumentam a densidade animal e, conseqüentemente os desafios sanitários intensificam.

A necessidade de uma maior demanda produtiva é imposta ao rebanho e com este um maior desafio no metabolismo dos animais. O equilíbrio entre o ingresso de nutrientes no organismo e a capacidade de processar estes componentes, associado com as necessidades de produção, pode ser comprometido (Gonzales *et al.*, 2000). O momento de maior desafio sanitário para as vacas de leite é durante o pré e o pós-parto imediato, onde os riscos das enfermidades metabólicas e infecciosas são intensos

(Grummer *et al.*, 2004). Aproximadamente 75% das doenças ocorrem no primeiro mês após o parto (Goff, 2006), associado principalmente às mudanças que ocorrem nas três últimas semanas de gestação até as três semanas posteriores ao parto, conhecido como período de transição (Grummer, 1995; Drackley, 1999).

Assim, atenção especial vem sendo dada para importância deste período na vida produtiva do animal. A transição da vaca gestante não lactante para não gestante lactante é marcada por intensas mudanças hormonais e metabólicas, associadas à queda da ingestão de alimentos, ao balanço energético negativo, ao grande crescimento do concepto e a conseqüente alta demanda de nutrientes (Grummer, 1995; Drackley *et al.*, 2005). Uma das primeiras alterações é o aumento abrupto no requerimento de nutrientes (Bell, 1995), que caso não correspondido em termos de incremento na ingestão de matéria seca (IMS), poderá comprometer o atendimento da demanda nutricional do animal (Grummer, 1995). Neste caso, o quadro de balanço energético proteico e mineral é negativo e pode predispor a ocorrência de problemas metabólicos com conseqüente queda na produção de leite (Dann *et al.*, 1999). Alguns estudos demonstram que a exigência energética e proteica supera

respectivamente, cerca de 26 e 25% o consumo do animal logo após o parto. Todas estas mudanças apresentam uma profunda relação entre si e impactam na saúde, produção e rentabilidade de vacas leiteiras (Drackley, 1999).

As fazendas que apresentam falhas nos processos operacionais, técnicos, gerenciais, administrativos e pessoais, durante o período de transição (final da gestação, parto e início da lactação), podem experimentar problemas em seus animais como: hipocalcemia, cetose, deslocamento de abomaso, retenção de placenta, acidose metabólica, laminite, metrite e mastite (Ingvarsen *et al.*, 2003; LeBlanc, 2010). Todos estes distúrbios, além de serem fatores de risco para ocorrência de outras patologias, refletem em menor produção de leite e menor desempenho reprodutivo, consequentemente aumentam os custos de produção (Drackley, 1999; Drackley *et al.*, 2005; Duffield *et al.*, 2009). A maioria destas anomalias possui algum elemento metabólico como componente causal da enfermidade (Payne *et al.*, 1970).

A cetose é uma doença metabólica de considerável interesse econômico mundial, devido sua alta prevalência e impacto na produtividade dos rebanhos. Está intimamente relacionada com o metabolismo de lipídeos e caracteriza-se

pela alteração na concentração de ácidos graxos livres e corpos cetônicos circulantes no organismo (Anderson, 1988; Drackley, 1999; Duffield, 2000; Drackley *et al.*, 2005; Duffield e Leblanc, 2009). Portanto, é relevante e necessário o acompanhamento e monitoramento da saúde e do conforto das vacas durante o período de transição (Oetzel e McGuirk, 2007; Oetzel, 2010; LeBlanc, 2010).

O que é feito por algumas propriedades é o monitoramento de ocorrências clínicas das enfermidades neste período, com intuito exclusivamente terapêutico, isto é, para o tratamento de animais doentes. Outras propriedades já realizam o acompanhamento do manejo nutricional, uma ação de grande avanço considerando as primeiras. Ou seja, a mensuração é o primeiro passo para uma boa administração. Entretanto, o maior impacto produtivo e econômico é favorecido pelas enfermidades subclínicas (Duffield, 2006; Gay, 2006), isto é, aquelas com ausência de sintomas visíveis ou sem manifestação pelo animal, onde ferramentas adicionais são necessárias para o diagnóstico. Neste sentido, outra forma de monitoramento é por meio da análise dos parâmetros metabólicos (Payne *et al.*, 1970; LeBlanc *et al.*, 2005). Isto é, o estudo de alguns componentes hemato-bioquímicos específicos que servem para

avaliar, diagnosticar e prevenir os transtornos metabólicos.

Segundo Wittwer (2000), os componentes sanguíneos mais comumente determinados representam as principais vias metabólicas do organismo, das quais a glicose, o colesterol, os ácidos graxos não esterificados e o beta-hidroxibutirato representam o metabolismo energético. A albumina e as proteínas totais representam o metabolismo proteico, enquanto o cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio representam os minerais (Wittwer e Contreras, 1980; Wittwer, 2000). Adicionalmente são avaliados os indicadores do funcionamento hepático, como as enzimas AST (aspartato aminotransferase) e LDH (lactato desidrogenase ou LD). Assim, a interpretação de alguns metabólitos de um grupo de animais, com o foco no rebanho pode ser de grande valia para o gerenciamento e tomada de decisões na propriedade. Considerando ainda os poucos benefícios em tratar animais com altos parâmetros metabólicos (Duffield e LeBlanc, 2009).

O presente estudo tem como objeto avaliar o perfil metabólico, métodos de análise e diferentes locais de colheita de sangue para mensuração de beta hidroxibutirato com

aparelho portátil em vacas de aptidão leiteira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Período de transição

O período entre o final da gestação e o início da lactação é considerado o de maior interesse do ciclo produtivo de vacas leiteiras (Burhans *et al.*, 2003; Drackley *et al.*, 2005). É um momento de grande mudança para o animal, quando este deixa o estado de gestante não lactante para não gestante lactante. Este espaço de tempo é conhecido como período de transição e compreende as três últimas semanas que antecedem o parto até as três semanas posteriores ao parto (Grummer, 1995; Drackley, 1999).

Segundo Grummer (1995) e Drackley (1999) a maioria dos problemas metabólicos ocorre nesta fase do ciclo produtivo e podem facilmente prejudicar toda a expectativa de produção de uma vaca durante a lactação. De acordo com Dann *et al.* (1999), a ocorrência de doenças metabólicas e a diminuição da produção de leite que se manifestam no período de transição, estão relacionadas com as intensas mudanças endócrinas e

metabólicas que acontecem próximo ao parto. Burhans *et al.* (2003) afirma que as perdas econômicas nesta fase são significativas para fazendas comerciais de produção de leite.

As alterações que ocorrem no organismo animal durante o período de transição são adaptativas e tem o intuito de preparar a vaca para o final da gestação e o início da lactação (Bell, 1995; Drackley, 1999; Roche *et al.*, 2009; Wittwer, 2000a,b). A finalidade é a disponibilização de nutrientes para o bezerro. No entanto, há uma alta demanda energética proteica mineral imposta pelo aumento do crescimento no tamanho do concepto (tecidos uterinos, membranas fetais e feto) e pela preparação da glândula mamária para lactogênese e formação do colostro, que pode favorecer a manifestação de distúrbios nos mecanismos responsáveis pela homeostase do organismo (Bell, 1995; Grummer, 1995). Segundo Grummer (1995) e Drackley (1999) este é um período marcado pelo aumento da demanda de nutrientes e diminuição do consumo de alimentos.

As principais enfermidades que acometem as vacas de aptidão leiteira ocorrem no

período de transição. Estas são conhecidas por “Doenças de produção” ou “Complexo de doenças do peri-parto”, devido suas inter-relações e complexidade, uma vez que uma condição patológica determina ou favorece a ocorrência de outra (Mulligan e Doherty, 2008). Durante esta fase, a ocorrência de distúrbios metabólicos como hipocalcemia, esteatose hepática e cetose, pode contribuir para uma menor resposta do sistema imunológico e doenças associadas a estes desequilíbrios manifestar-se, como o deslocamento de abomaso, retenção de placenta, mastite e metrite (Dohoo e Martin, 1984; Grum *et al.*, 2002; Duffield, 2002; Drackley *et al.*, 2005).

Dentre estes problemas, as doenças metabólicas ocasionadas pelo desequilíbrio entre os nutrientes que ingressam no organismo e as necessidades de manutenção e produção, possui significativo impacto na produtividade do rebanho (Drackley *et al.*, 2005). As alterações no metabolismo, principalmente durante o período de transição, refletem nas concentrações de metabólitos circulantes no sangue e podem ser mensuradas através do perfil metabólico (Payne *et al.*, 1970; Payne e Payne, 1987; Gonzales, 2000; Wittwer, 2000 a,b).

2.1.1. Perfil metabólico

O perfil metabólico consiste na análise de fluidos orgânicos, com intuito de conhecer os teores dos metabólicos circulantes no organismo (Payne *et al.*, 1970). Desde 1960, a análise dos componentes sanguíneos, começou a ser utilizada na medicina humana e no final desta década se estendeu para a medicina veterinária. Payne *et al.* (1970) na Inglaterra desenvolveu o termo perfil metabólico como método de estudo para as chamadas doenças de produção, com a finalidade de avaliar, diagnosticar e prevenir os desequilíbrios metabólicos em vacas de aptidão leiteira.

Através do perfil metabólico podem-se acompanhar os processos adaptativos do organismo (Payne *et al.*, 1970; Payne e Payne, 1987; Gonzales, 2000; Wittwer, 2000a,b). Além disso, permite o diagnóstico de transtornos metabólicos, de deficiências nutricionais e pode ser utilizado como monitoramento em saúde e desempenho produtivo de rebanho (LeBlanc *et al.*, 2006; Duffield e LeBlanc, 2009). O número de metabólitos que podem ser incluídos no perfil é ilimitado (Wittwer e Contreras, 1980; Wittwer, 2000b).

O fluido mais utilizado para determinação da concentração de indicadores metabólitos é o sangue, tanto pela qualidade de

informação quanto pela facilidade de colheita (Contreras *et al.*, 2000). Em bovinos, a avaliação do perfil metabólico é realizada através de colheita de amostra de sangue de veia jugular ou veia coccígea (Duffield, 2000; Iwersen *et al.*, 2009; Voyvoda e Erdogan, 2010), e análise de alguns metabólitos presentes no soro ou plasma (Payne e Payne, 1987).

Segundo Oetzel (2004) a análise dos resultados do perfil metabólico pode ser realizada de duas maneiras, como média dos valores do grupo de animais amostrados ou como proporção de animais acima ou abaixo do ponto de corte. O perfil do metabólito em estudo irá determinar qual a melhor forma de interpretação, conforme seu valor de referência (Oetzel, 2004).

A constituição do perfil metabólico pode ser representada por indicadores do metabolismo energético, proteico, mineral e de atividades hepática (Payne *et al.*, 1970; Payne e Payne, 1987; Gonzales, 2000; Wittwer, 2000 a,b).

2.2. Metabolismo energético

Durante as três últimas semanas de gestação, o metabolismo energético é influenciado pelas alterações endócrinas e pela queda no consumo de alimentos, que

paralelamente a maior demanda por nutrientes, induz a mobilização de gordura do tecido adiposo (Bertics *et al.*, 1992; Vazquez-Anon *et al.*, 1994; Grummer, 1995; Grum *et al.*, 1996; Drackey, 1999).

O tecido adiposo é a reserva predominante do corpo da vaca e consiste de células conhecidas como adipócitos preenchidas por triglicerídeos (Bell, 1995). Nos adipócitos pode ocorrer degradação ou síntese de triglicerídeos, denominadas lipólise e lipogênese.

Com o objetivo de manter o equilíbrio, durante o período de transição, há aumento da lipólise e diminuição da lipogênese (Bauman e Currie, 1980; Bell, 1995), devido a menor ingestão de matéria seca (Grummer, 1995) e maior demanda energética (Drackley, 1999). Então, o animal possui um déficit entre a energia ingerida através dos alimentos e a energia utilizada pelo organismo, para manutenção e produção, caracterizando o balanço energético negativo (BEN) (Drackley, 1999; Baumgard *et al.*, 2006).

A maioria das vacas apresenta, durante o período de transição, balanço energético negativo e utilizam reservas corporais para suprir as suas exigências, mesmo quando os alimentos estão disponíveis em quantidade e qualidade (Butler *et al.*, 1981; Villa

Godoy *et al.*, 1988; Grummer, 1995; Baumgard *et al.*, 2006).

O período de balanço energético negativo inicia-se nas últimas semanas antes do parto, decorrente da diminuição na ingestão de matéria seca (IMS) (Vasquez-Añon *et al.*, 1994; Grummer, 1995), e intensifica durante a última semana pré-parto em até 30% (Bertics *et al.*, 1992; Vazquez-Anon *et al.*, 1994; Grummer, 1995; Hayirli *et al.*, 2002). Paralelamente, as exigências nutricionais maternas aumentam de 30 a 50% (Bauman e Currie, 1980; Bell, 1995; Bell *et al.*, 1995). Desta forma, o animal entra em BEN e o organismo busca suprir este aumento de demanda energética através de uma fonte alternativa, que na espécie bovina, ocorre por mobilização de reservas corporais (Grant e Albright, 1995; Grummer, 1995). Este período prolonga-se após o parto com uma maior amplitude do déficit energético, pois a taxa de ingestão de alimentos é menor que as necessidades nutricionais para manutenção e produção de leite (Bell, 1995; Grummer, 1995; Ingvarsen e Andersen, 2000).

Os animais em balanço energético negativo possuem uma mobilização maior de reservas corporais de gordura (Bauman e Currie, 1980), e segundo Butler *et al.* (1981) 92% das vacas de leite apresentam

BEN no início da lactação, com intensidade e duração variando entre os indivíduos.

Durante o BEN e especialmente no período de transição, as mudanças que ocorrem no metabolismo são reflexos de alterações metabólicas no fígado (Grum *et al.*, 1996), tecido adiposo e no músculo esquelético (Grummer, 1995; Drackley, 1999), além de secreções e hormônios (Head e Gulay, 2001).

Os ácidos graxos mobilizados pelo tecido adiposo circulam na corrente sanguínea, acoplados à albumina (Kato, 2002), como AGNE (ácidos graxos não esterificados, ácidos graxos livres ou ácidos graxos de cadeia longa) ou também conhecidos como NEFA (Non Esterified Fat Acids), e é a principal fonte de energia para vaca durante este período (Drackley *et al.*, 2001). Eles podem ser utilizados como precursores de gordura do leite na glândula mamária ou como fonte energética pela musculatura esquelética e fígado.

Quanto mais intenso o BEN, maior a magnitude de mobilização no tecido adiposo e maior será a concentração de AGNE no sangue (Drackley *et al.*, 2001). A taxa de captação de AGNE pelo fígado, para metabolização e produção de energia, é diretamente proporcional à concentração do mesmo no sangue (Drackley *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2003). Esta concentração

dobra cerca de duas a três semanas antes do parto e aumenta de maneira intensa no dia do parto (Bertics *et al.*, 1992).

Logo após o parto, há um grande aumento na demanda de glicose para síntese do leite (Reynolds *et al.*, 2003) e o consumo de matéria seca ainda é baixo (Grummer, 1995). Devido à maioria dos carboidratos oriundos da dieta ser fermentados no rúmen, pouca glicose é absorvida no trato digestivo (Drackley *et al.*, 2005). A produção de propionato é insuficiente para atender a alta demanda sistêmica de glicose (Drackley *et al.*, 2001). A ingestão total de energia por vaca é geralmente menor que as exigências, até mesmo em vacas sadias (Bell, 1995). Então se intensifica a mobilização de reservas, há aumento na concentração de ácidos graxos de cadeia longa na circulação sanguínea e estes são captados pelo fígado (Drackley 1999).

Os ácidos graxos não esterificados (AGNE), no fígado, podem ter três destinos: 1) serem completamente oxidados e usados como substrato energético para o fígado, 2) serem parcialmente oxidados e liberados na forma de corpos cetônicos no sangue para fornecimento de energia em outros tecidos ou 3) serem esterificados e convertidos novamente na forma de triglicerídeos (TG), sendo então direcionados para a síntese de gordura do

leite, ou armazenados no próprio órgão (Drackley, 1999; Li *et al.*, 2012).

Os corpos cetônicos (beta hidroxibutirato, acetona e aceto acetato) são metabolitos intermediários da oxidação de ácidos graxos e são fontes de energia (Wittwer, 2000a). Entretanto, o fígado dos ruminantes apresenta capacidade limitada para oxidar completamente os AGNE pelo ciclo do ácido tricarbocílico e também de exportar os triglicerídeos como lipoproteínas de baixa densidade (VLDL).

Desta forma, a sua maior mobilização em relação à baixa exportação ocasiona o acúmulo de gordura hepática e a acetil-coenzima A não consegue ser incorporada ao ciclo do ácido tricarbocílico, então é convertida em beta hidroxibutirato (BHBA) e aceto acetato (Goff e Horst, 1997b).

Em um período de transição no qual estas alterações sejam intensas ou de desafios maiores, o animal está mais predisposto a desenvolver enfermidades metabólicas (Bell, 1995; Goff e Horst, 1997b). Quando a captação de ácidos graxos excede a habilidade de oxidação pelo fígado, a produção de corpos cetônicos aumenta e conseqüentemente na circulação sanguínea, podendo o animal desenvolver cetose (Duffield, 2000; Herdt, 2000; Drackley *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2012). Esta excessiva absorção de AGNE pelo fígado pode

favorecer a ocorrência do fígado gorduroso (Bobe *et al.*, 2004).

Quando há uma grande mobilização de ácidos graxos, as células hepáticas convertem o excesso de acetil-coa gerado pela beta-oxidação em corpos cetônicos, principalmente BHBA, acetoacetato e acetona (Grummer, 1995; Herdt, 2000; Li *et al.*, 2012), os quais são encontrados no sangue, leite e urina (Goff e Horst, 1997b).

Contudo, o aumento da lipólise e a diminuição da lipogênese não ocorrem somente devido a menor ingestão de alimentos associado a maior demanda nutricional (Grummer, 1995; Drackley, 1999). Mecanismos de regulação hormonais estão envolvidos na mobilização de reservas corporais (Bauman e Curie, 1980).

A contribuição de glicose absorvida no intestino delgado no total de glicose circulante em ruminantes é muito baixa. O propionato de origem da fermentação rumenal é o principal precursor da glicose em ruminantes. A glicose é o principal precursor da lactose (Mephan, 1988), a qual por mecanismo osmótico é a principal determinante da produção de leite. O consumo de glicose pela glândula mamária pode representar acima de 80% da quantidade total de glicose circulante (Mephan, 1988). Nestes animais, cerca de 90% da glicose presente na circulação

sanguínea é originária da gliconeogênese hepática, a qual é realizada a partir de substratos como ácido propiônico, aminoácidos, lactato e glicerol (Young, 1977; Vernon, 1988), e menos de 10% da glicose utilizada no metabolismo é absorvida no intestino.

Outros fatores podem exacerbar e relacionam-se com o balanço energético negativo, sendo capazes de proporcionar estresse nos animais. Além do próprio processo de parto, as condições ambientais, disponibilidade e qualidade de alimento, tamanho de cocho, fornecimento de dieta adequada para o pré-parto e pós-parto, podem afetar o consumo e até aumentar as necessidades nutricionais atuando na capacidade de resposta imunológica (Goff e Horst, 1997b; Ingvarlsen e Andersen, 2000; Ingvarlsen *et al.*, 2003; Bertoni *et al.*, 2008; Bradford, 2010). Segundo Goff e Horst (1997b) o estresse físico pelo calor, baixas condições de conforto, instalações e manejo inadequado, podem diminuir a ingestão de alimentos e intensificar a imunossupressão.

Os ácidos graxos não esterificados e os corpos cetônicos diminuem a função imune. Suas concentrações elevadas afetam a habilidade dos leucócitos em multiplicar e migrar para o local da infecção (Kremer *et al.*, 1993). Segundo demonstrado por Kehrlí e Goff. (1989) a atividade de neutrófilos e

linfócitos está diminuída em até 50% nos dias em torno do parto. Com o sistema imune debilitado, o risco do desenvolvimento de doenças é maior no período de transição. Para Mulligan e Doherty (2008) o período imediatamente após o parto é o de maior risco para ocorrência de doenças.

A intensidade que as vacas de produção são expostas aos desafios é o fator determinante para a ocorrência de desequilíbrios no metabolismo (Drackley, 1999). A avaliação de componentes do metabolismo energético contribui para identificação de situação e monitoramento da condição do animal (Oetzel, 2004).

2.2.1. Indicadores energéticos no perfil metabólico

Os componentes energéticos do perfil metabólico mais comumente utilizados são os ácidos graxos não esterificados, beta hidroxibutirato e o colesterol (Payne e Payne, 1987; Gonzales *et al.*, 2000; Herdt, 2000). Suas avaliações permitem determinar a intensidade e adaptação do organismo ao BEN (Duffield e LeBlanc, 2009; LeBlanc, 2010).

Os AGNE são importantes para o monitoramento da intensidade de mobilização de reservas corporais (Duffield

e LeBlanc, 2009; LeBlanc, 2010). Segundo LeBlanc *et al.* (2005) conforme o risco à desordem metabólica, a concentração sanguínea aumenta cerca de quatro dias antes do parto e atinge o pico aproximadamente três dias após o parto.

O BHBA é o principal corpo cetônico circulante nos ruminantes (LeBlanc *et al.*, 2005; Duffield e LeBlanc, 2009; Ospina *et al.*, 2010b), e possui maior estabilidade na amostra em relação ao acetoacetato e acetona (Herdt e Gerloff, 2009). É um dos corpos cetônicos mais frequentemente mensurado para monitorar o BEN e identificar vacas que apresentem cetose subclínica (Anderson, 1988).

Elevadas concentrações de AGNE e BHBA podem comprometer as funções fisiológicas dos órgãos devido à sua toxicidade (Bobe *et al.*, 2004). Segundo Li *et al.* (2012) eles alteram o próprio metabolismo dos ácidos graxos quando estão em excesso, embora nem todos os efeitos das suas concentrações sejam conhecidos. Há uma grande correlação dos níveis de AGNE e BHBA, ocorrendo aumento de BHBA momentos após o aumento da concentração de AGNE (Busato *et al.*, 2002; Doepel *et al.*, 2002; Cavestany *et al.*, 2005).

Entretanto, altas concentrações destes metabólitos estão associadas com maiores risco de desenvolvimento de várias doenças

como cetose, fígado gorduroso, deslocamento de abomaso, metrite, retenção de placenta, mastite (Kaneene *et al.*, 1997; LeBlanc *et al.*, 2005; LeBlanc, 2010; Ospina *et al.*, 2010a; Stengärde, 2010), queda no desempenho reprodutivo (Duffield *et al.*, 2009; Ospina *et al.*, 2010b), diminuição do status imunológico (LeBlanc, 2010), aumento da chance de descarte (Roberts *et al.*, 2012) e queda dos resultados de produção (Dohoo e Martin, 1984; Duffield *et al.*, 2009; LeBlanc, 2010).

A avaliação do risco de ocorrência de doenças, tanto individual quanto de rebanho, pode ser feita através de limiares de concentrações de AGNE e BHBA (LeBlanc *et al.*, 2005; Duffield *et al.*, 2009; Ospina *et al.*, 2010a).

Altas concentrações de AGNE são sugestivas da intensidade do BEN e neste caso ocorrem altas taxas de lipólise (Li *et al.*, 2012). Para Ospina *et al.* (2010b) rebanhos onde mais de 15% dos animais com concentrações de NEFA acima de 0,3 mmol/L no pré-parto ou 0,7 mmol/L no pós-parto, ou de BHBA maior que 1,2 mmol/L no pós-parto, são risco para um menor desempenho reprodutivo, produtivo e para a saúde. Outros autores encontraram valores próximos a estes associados com maior incidência de deslocamento de abomaso, metrite, cetose clínica, retenção

de placenta e maior taxa de descarte (Cameron *et al.*, 1998; LeBlanc *et al.*, 2005; Ospina *et al.*, 2010a; Chapinal *et al.*, 2011; Roberts *et al.*, 2012).

Com relação ao BHBA, valores inferiores a 0,6 mmol/L indicam provavelmente que o animal não está perdendo peso. Enquanto concentrações entre 0,6 e 1,0 mmol/L é sugestivo de mobilização de reservas corporais e adaptação ao BEN. Porém, níveis superiores a 1,0 mmol/L são indesejáveis e afetam a produção e a saúde do animal (Whitaker, 2004).

Contudo, Oetzel (2004) recomenda um ponto de corte de 0,4 mmol/L de NEFA no pré-parto, e 1,4 mmol/L de BHBA no pós-parto, trabalhando com no máximo 10% de animais em ambas as análises como sinal de alerta. Segundo o autor as amostras de sangue para mensuração de NEFA devem ser colhidas no período de 2 a 14 dias antes do parto, e para BHBA entre o 5º e o 50º dia pós-parto. A partir deste levantamento, pode-se classificar o rebanho, conforme o número de animais positivos, em negativo (0 a 11% de animais positivos), estado de alerta (12 a 24%) e positivo (acima de 25%) para cetose subclínica e para excessivo balanço energético negativo (Oetzel, 2004).

A colheita de amostras de sangue para mensuração de NEFA e BHBA deve ser obtida através de veia jugular ou coccígea, e

não de veia mamária. Pois, a glândula mamária utiliza estes dois compostos para síntese da gordura do leite, sendo seus níveis inferiores na veia mamária (Bauman e Griinari, 2003).

Duffield e LeBlanc (2009) recomenda que as amostras sejam obtidas sempre no mesmo horário, pois os as concentrações de NEFA e BHBA variam de acordo com o tempo de alimentação. Sendo os valores mais altos de NEFA encontrados alguns momentos antes da primeira alimentação.

2.2.2. Regulação hormonal no metabolismo energético

Durante o período de transição ocorrem grandes mudanças no perfil hormonal, em especial no que se refere aos hormônios que regulam a utilização de lipídios e carboidratos (Drackley, 1999). Com a aproximação do parto, as concentrações de insulina diminuem e as do hormônio do crescimento aumentam (Chew *et al.*, 1984; Vallimont *et al.*, 2001).

Segundo Murray e colaboradores (1994), a relação das taxas de insulina e glucagon estão relacionadas com a deposição e mobilização de nutrientes do tecido corporal. Ocorre uma redução da concentração de insulina nos dias que antecedem o parto e permanência durante as

primeiras semanas de lactação (Vázquez-Anón *et al.*, 1994). Em contrapartida, o glucagon aumenta nas semanas seguintes ao parto (Hammon *et al.*, 2009). Esta mudança faz com que, o animal, mobilize reservas corporais do tecido adiposo e da musculatura esquelética (Drackley, 1999).

Durante o final de gestação e pós-parto, há adaptação do organismo animal para o direcionamento de nutrientes ao feto e glândula mamária, estimulando a lipólise através do desacoplamento do eixo GH-IGF1 (hormônio do crescimento – fator de crescimento semelhante à insulina) (Doepel *et al.*, 2002), quando a concentração de GH aumenta e IGF1 diminui. O GH atua aumentando os estímulos lipolíticos, atenuando a resposta lipogênica da insulina e inibindo a captura de glicose pelos adipócitos (Roche *et al.*, 2009; Lucy *et al.*, 2009). Assim, a hipoinsulinemia e a diminuição ao estímulo da insulina estão presentes no peri-parto (Bell e Bauman, 1997), possibilitando maior disponibilidade de glicose para o feto e glândula mamária, enquanto outros tecidos passam a utilizar as reservas mobilizadas do tecido adiposo para suprir suas necessidades (Bell, 1995).

Ainda nas três semanas que antecedem o parto, as concentrações de estradiol aumentam, enquanto a progesterona diminui rapidamente na última semana de

gestação (Chew *et al.*, 1979). As concentrações de glicocorticoides e prolactina também aumentam e alcançam o pico no dia do parto, retornando as concentrações originais no dia seguinte (Grummer, 1995).

Essas mudanças no perfil hormonal contribuem para diminuição da ingestão alimentar, característica do período em torno do parto até o pós-parto (Drackley, 1999). Forbes (1996) relacionou o aumento do estradiol com a inapetência dos ruminantes nos últimos dias de gestação. O aumento do estrógeno pode também influenciar maior mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo durante os últimos dias de gestação e, portanto está envolvido na etiologia de enfermidades do metabolismo energético, como cetose e fígado gorduroso (Grummer, 2008).

2.2.3. Atividade hepática

O fígado é o órgão responsável na identificação de necessidades nutricionais de todos os tecidos do organismo e atua ajustando o seu metabolismo para atender a demanda (Seifter e England, 1994; Drackley *et al.*, 2005). Antes do parto, o feto é o principal coordenador do metabolismo hepático, e após o parto a glândula mamaria

é quem exerce esta função sobre o fígado (Reynolds *et al.*, 2003).

O fígado é responsável pela produção de proteínas, albumina, ácidos graxos, colesterol e pela detoxificação de compostos endógenos e exógenos (Kaneko *et al.*, 2008; Stockham e Scott, 2008). Com tantas funções e atividades, quando ocorre lesão tecidual ou perda de função hepática, há modificação nos componentes dos fluidos circulantes (Kaneko *et al.*, 2008; Stockham, 2008). Duas enzimas hepáticas, AST e LDH, podem ser utilizadas como indicadores do metabolismo hepático (Kaneko *et al.*, 2008).

Aeberhard *et al.* (2001) e Moreira (2013) encontraram aumento de atividade enzimática após o parto, tanto para AST quanto LDH.

2.2.3.1. Aspartato aminotransferase (AST)

A enzima aspartato aminotransferase (AST ou TGO) pode ser utilizada em ruminantes como indicador de desordem hepática e muscular (Kaneko *et al.*, 2008; Thrall *et al.* 2012).

Vacas que apresentam grande mobilização de reservas energéticas podem apresentar níveis elevados de AST em consequência de lesões hepáticas. Assim como animais de

alta produção também podem apresentar altos níveis circulantes. A enzima AST é um indicador do funcionamento hepático e pode refletir o quanto a vaca está mobilizando gordura corporal para tentar manter os níveis normais de energia (González e Rocha, 1998). Entretanto, Pearson *et al.* (1995) ressalta que a AST presente no soro pode ter origem no tecido muscular ou no fígado, não sendo considerado fígado-específica, apesar de catalisar a transferência de grupos amino de aminoácidos para cetoácidos.

Aquino Neto (2012) encontrou um aumento da atividade sérica de AST no dia do parto. Para Thrall *et al.* (2012) este aumento pode ser indicativo de maior metabolismo hepático. Pois, vacas de aptidão leiteira aumentam a produção hepática de glicose, paralelamente ao aumento da produção de leite (Bell, 1995). Porém, Fagliari *et al.* (1998) atribuiu o aumento da atividade de AST observado após o parto, ao esforço muscular ocorrido durante este processo.

O aumento de AST do parto até a segunda semana de lactação e posterior tendência a diminuir foi observado nos trabalhos de Aeberhard *et al.* (2001) e Moreira (2013). Diferente do relatado por De Paula *et al.* (2010) que não encontrou diferença na atividade enzimática de AST no peri-parto. Resultado semelhante foi descrito por

Birgel Junior *et al.* (2003) em animais da raça holandesa no Estado de São Paulo, sem alterações significativas na atividade de AST.

2.2.3.2. Lactato desidrogenase (LDH)

A lactato desidrogenase (LD, também abreviada como LDH) é uma enzima presente no citoplasma e indicadora de lesão de hepatócitos. Mas, sua atividade sérica também se encontra aumentada por lesão muscular e hemólise (mesmo discreta). O aumento da LDH pode ser causado por lesão celular reversível ou irreversível, focal ou difusa (Kaneko *et al.*, 2008).

Uma maior atividade de LDH no dia do parto foi relatada por De Paula *et al.* (2011). Trabalhando com animais mestiços, o autor encontrou atividade sérica de $724,92 \pm 249,63$ U/l e posterior diminuição no pós-parto.

Reynolds *et al.* (2003) afirmam que a alteração da atividade enzimática é um reflexo da mudança no metabolismo hepático do pré-parto para o pós-parto, em função principalmente da produção de leite.

2.2.4. Colesterol

Os bovinos, assim como todos os herbívoros, produzem praticamente todo o seu colesterol a partir do fígado (Kaneko, *et al.*, 2008). O estímulo para produção de colesterol ocorre através de altas concentrações de insulina, como por exemplo, durante a alimentação. Enquanto altas concentrações de glucagon, durante jejum, inibem a síntese de colesterol (Kaneko *et al.*, 2008).

O colesterol sintetizado no fígado é exportado através de componente das proteínas de baixo peso molecular (VLDL) para circulação sanguínea e é utilizado em outros tecidos, ou ainda eliminado nos ácidos biliares (Trall *et al.*, 2012).

Kaneko *et al.* (2008) recomenda níveis normais de colesterol entre 80 e 120 mg/dL. Entretanto, Pogliani e Birgel Junior (2007) considera um valor de referência entre 94,63 e 146,93 para ser utilizado em animais no final da gestação, e entre 32,2 e 103,3 mg/dl para vacas no início de lactação.

Os valores de colesterol são significativamente baixos no momento do parto e vão aumentando progressivamente no início da lactação (Van Knegsel *et al.*, 2007). Os níveis de colesterol estão

relacionados com a ingestão de alimentos, havendo um comportamento similar entre estes. Com aproximação do parto ocorre diminuição na IMS (Grummer, 1995) e na concentração de colesterol (Kaneko *et al.*, 2008). O cortisol, liberado no peri parto, também contribui para diminuição na concentração sérica de colesterol (Kaneko *et al.*, 2008).

Garcia (2010) em estudo com vacas holandesas encontrou concentrações de colesterol menores na primeira semana pré-parto (88,16 mg/dl) em relação à quarta semana após o parto (91,36 mg/dl). Outros autores relatam comportamento semelhante, redução dos níveis de colesterol com aproximação do parto e posterior elevação (Schwalm e Schultz, 1976; Van den Top *et al.*, 1995a, 1996; Kaneene *et al.*, 1997).

Stengärde *et al.* (2008) e Van Dorland *et al.* (2009) também encontraram aumento na concentração sérica de colesterol após o parto. Esta hipercolesterolemia é fisiológica e é devida a mobilização de reservas lipídicas (Margolles, 1983; Aeberhard *et al.*, 2001).

Enquanto baixas concentrações séricas de colesterol estão relacionadas com problemas metabólicos (Stengärde, 2010), esteatose hepática (Grum *et al.*, 1996) e baixo consumo voluntário (Guretzky *et al.*, 2006).

2.3. Cetose

Cetose é uma alteração no metabolismo energético que acomete principalmente vacas leiteiras durante o período periparturiente. Ocorre quando há um excesso na produção e concentração de corpos cetônicos, em função da maior demanda energética para produção de leite (Anderson, 1988; Baird, 1992; Duffield *et al.*, 2009; Roche *et al.*, 2009).

O não suprimento de demanda energética, quadro que caracteriza o balanço energético negativo (BEN), promove a mobilização das reservas energéticas pelo animal. O resultado desta lipólise é um aumento da concentração sanguínea de ácidos graxos não esterificados (AGNE). Ao chegarem ao fígado, esses AGNE são ré-esterificados a triglicerídeos ou são transportados à mitocôndria onde são oxidados na forma de acylgraxo-coa. Um sistema de transporte específico é formado pela carnitina acyltransferase I e II é responsável pela sua transferência com posterior beta oxidação e geração de acetil-coa, NADH e FADH₂, CO₂, água e energia na forma de ATP, ou ainda, ser usado na síntese de corpos cetônicos (aceto acetato, acetona e beta hidroxibutirato) (Emery *et al.*, 1992; Drackey, 1999). Quanto maior a mobilização das reservas lipídicas, maior a

taxa de captação pelo fígado e maior será a saturação das vias hepáticas. Assim, a concentração dos corpos cetônicos aumenta nos fluidos corporais (cetonemia, cetonúria e cetolácia), evidenciando um quadro de cetose (Duffield, 2000; Herdt, 2000; Drackley *et al.*, 2001).

Segundo LeBlanc (2010) a maior frequência de casos de cetose é na segunda semana após o parto, quando acontece a maior mobilização de gordura corporal. Os corpos cetônicos são fonte energética para tecidos que possam oxidá-los como os músculos esqueléticos, coração, trato gastrointestinal, rim e glândula mamária (Bell, 1995). A glândula mamária utiliza uma grande quantidade glicose disponível no sangue (Bell, 1995) e os corpos cetônicos são importante fonte de energia e precursores de síntese de ácidos graxos neste órgão (Drackley *et al.*, 2001).

Os animais com cetose apresentam redução na produção de leite, anorexia e perda de peso. Podem ser observadas ainda letargia ou hiperexcitação e distúrbios metabólicos como hipercetonemia, hipoinsulinemia e redução do glicogênio hepático (Baird, 1982). A cetose pode ocorrer na forma clínica ou subclínica (Dohoo e Martin, 1984).

Na cetose clínica há uma rápida perda de score corporal, queda da produção leite,

fezes secas, anorexia, prostração, o odor de cetona no ar expirado, alta concentração de corpos cetônicos nos fluidos corporais e ocasionalmente pode evoluir apresentando sinais nervosos (Ingvarsen, 2006; Radostits *et al.*, 2007; Duffield *et al.*, 2009).

Enquanto a cetose subclínica caracteriza-se pelo excesso dos níveis circulantes de corpos cetônicos nos fluidos orgânicos (leite, soro e urina) e a não apresentação de sinais clínicos (Anderson, 1988; Duffield, 2000; Gonzáles, 2000). Uma concentração sérica superior a 1,2 mmol/L de beta hidroxibutirato é considerado cetose subclínica, provocando impacto na saúde e na produtividade do animal (Duffield, 2000; Duffield *et al.*, 2009). Ainda segundo Duffield (2000) o impacto econômico provocado pela cetose subclínica é grande, devido à perda de peso do animal, o menor índice de fertilidade e aumento da ocorrência de enfermidades secundárias. Além disso, há também o aumento do risco dos animais de cetose subclínica desenvolverem outras enfermidades, como por exemplo, o deslocamento de abomaso (Dohoo e Martin, 1984; Duffield *et al.*, 1997; Duffield *et al.*, 2009; Ospina *et al.*, 2010a,b). Neste caso, observa-se também aumento nos níveis de colesterol e enzimas sinalizadoras de lesão hepática devido a

grande mobilização de reservas de gordura e possíveis danos no fígado.

Os relatos de prevalência de cetose subclínica variam de 6,9% a 14,1% nos primeiros meses de lactação (Dohoo e Martin, 1984; Duffield *et al.*, 1997) e seu pico ocorre nas duas primeiras semanas após o parto (Duffield *et al.*, 1997; 1998, 2000). No entanto, uma prevalência de 34% foi relatada por Kauppinen (1983) e Duffield *et al.* (1997). A incidência de cetose subclínica pode ser até 80% em alguns rebanhos, sendo muito maior do que 2 a 15 % de cetose clínica (Duffield, 2000). Já Oetzel (2004) relatou que cerca de 30% das vacas podem ter concentrações sanguíneas elevadas de BHBA no início da lactação. McArt *et al.* (2012) encontrou uma incidência média de cetose subclínica de 23% nos 16 primeiros dias de lactação, e o pico de ocorrência no quinto dia após o parto. Assim, o diagnóstico precoce desta enfermidade é muito importante.

2.3.1. Diagnóstico de cetose

O diagnóstico de cetose consiste nas informações do histórico do animal, exame clínico e exames ou testes complementares que avaliam a presença de corpos cetônicos

na urina, leite ou sangue (Anderson, 1988, Duffield *et al.*, 1997, Duffield, 2000).

O diagnóstico de cetose pode ser feito pela avaliação dos corpos cetônicos. Em função de sua solubilidade no plasma, eles são filtráveis e passam facilmente para a glândula mamária. Assim, o diagnóstico pode ser feito através do leite (onde são encontrados 3 a 5% do total existente no organismo), do sangue (10% do total) e da urina (40% do total). O acetoacetato e a acetona são muito voláteis e por isto, os testes que demandam mais tempo devem ser específicos para BHBA.

Os testes de urina e leite são rápidos e realizados ao lado da vaca. Porém são semi quantitativos, a concentração de corpos cetônicos é estimada pela cor, e é preciso consultar as instruções do fabricante. Na urina a medição é feita com fitas que detectam o acetoacetato e acetona, enquanto no leite tabletes reagem com BHBA alterando a coloração em concentrações acima de 1,0 mmol/L (Iwersen *et al.*, 2009). Quando comparados aos testes de urina, os testes de leite são menos sensíveis e podem alterar a porcentagem de vacas com cetose em um rebanho (Oetzel e McGuirk, 2007).

A mensuração de BHBA sanguíneo é um método adequado para o monitoramento de cetose no rebanho devido sua estabilidade e predominância entre os corpos cetônicos

circulantes (Dohoo e Martin, 1984; Duffield, 2000; Herdt, 2000; Oetzel, 2004; LeBlanc *et al.* 2006). No entanto, há exigência de estrutura laboratorial, cuidados com o manuseio de amostra e demanda logística e tempo para emissão de resultado.

Duffield *et al.* (2009) relatam que a partir 1,0 mmol/L de BHBA nos níveis sanguíneos começa a surgir os problemas de cetose subclínica. Entretanto, Nielen *et al.* (1994) recomenda 1,2 mmol/L como ponto de corte. Para Duffield *et al.* (2009) o valor do ponto de corte depende da capacidade do animal suportar a elevação dos corpos cetônicos e pode ser controverso.

Atualmente, com a evolução da geração tecnológica de bio-aparelhos, aparelhos portáteis de fácil manuseio e praticidade estão bastante difundidos na medicina humana e são utilizados para diagnóstico e monitoramento de glicose e corpos cetônicos (Guerci *et al.*, 2005). Os testes em humanos demonstraram bons resultados de concordância entre o aparelho Optium Xceed[®] e os métodos laboratoriais (Byrne *et al.*, 2000; Ronald, 2008). Segundo o fabricante, Abbott^{®1} laboratórios, o

¹ Abbott[®] - Abbott Laboratórios do Brasil LTDA. Rua Michigan, 735 – Cidade Monções. CEP:04566 – 905 São Paulo – SP. Serviço ao

aparelho pode ser utilizado com amostra de sangue total venoso ou de capilar (ponta do dedo) sem anticoagulante. Amostras de sangue total venoso contendo heparina ou EDTA também podem ser utilizadas em até 30 minutos após a colheita.

O aparelho (comercializado por Abbott[®] Laboratórios como Precision Xtra^{®2} nos Estados Unidos e Optium Xceed^{®3} na Europa e no Brasil) foi desenvolvido para o uso em humanos (Byrne *et al.*, 2000; Guerci *et al.*, 2005; Ronald, 2008), mas pode ser utilizado com sangue de bovinos sem nenhuma modificação (Jeppesen *et al.*, 2006; Iwersen *et al.*, 2009; Oetzel, 2010; Voyvoda e Erdogan., 2010; Fraga *et al.*, 2011).

O primeiro relato da utilização de aparelho portátil de uso humano na mensuração de beta hidroxibutirato em sangue de bovinos foi realizado por Endocott *et al.* (2004), embora nenhuma informação de precisão

cliente: 0800-703 0128.
<http://www.abbottbrasil.com.br>

² Precision Xtra[®] - Aparelho portátil eletroquímico produzido pela Abbott Diabetes Care Inc. 1360 South loop Road Alameda, CA 94502, USA.

³ Optium Xceed[®] - Aparelho portátil eletroquímico produzido pela Abbott. Serviço ao cliente: 0800-703 0128.
<http://www.abbottbrasil.com.br>

do aparelho foi descrita. Jeppesen *et al.* (2006) realizou o primeiro estudo utilizando o aparelho eletrônico em vacas de aptidão leiteira para monitoramento de cetose subclínica e encontrou correlação de 0,99 com as concentrações de BHBA determinada pela espectrofotometria (padrão ouro).

Segundo recomendações do fabricante, o teste requer que uma gota de sangue seja colocada em uma tira reagente de beta cetona que inserida no aparelho determinará a concentração sanguínea de BHBA em sangue total. Ocorre uma reação eletroquímica entre o beta hidroxibutirato e o reagente da tira do aparelho, que foram projetadas para realizar medidas quantitativas de beta hidroxibutirato. O tamanho da corrente é proporcional às concentrações presente na amostra em mmol/L e o resultado é exibido no monitor do aparelho em até 10 segundos, na faixa de medição de 0 a 8,0 mmol/ dl (Iwersen *et al.*, 2009; Oetzel, 2010; Voyvoda e Erdogan, 2010).

Alguns trabalhos internacionais verificaram e validaram a utilização do aparelho portátil como método de monitoramento para cetose subclínica em bovinos (Oetzel e McGuirk, 2007). Analisando estes trabalhos e combinando-os, Oetzel e McGuirk (2007) encontraram uma sensibilidade de 91% e

especificidade de 94% para o diagnóstico de cetose. Foram ainda comparados os resultados com o método padrão ouro e encontrado alto coeficiente de determinação $R^2 = 0,94$.

Os coeficientes de correlação entre BHBA sérico determinado pela química úmida em laboratórios e o BHBA sanguíneo determinado pelo medidor foi 0,95 (Iwersen *et al.*, 2009), 0,97 (Voyvoda e Erdogan, 2010) e 0,93 (Oetzel, 2010) em estudos realizados na Alemanha, Turquia e EUA. Usando BHBA sérico como padrão 1300 ou 1400 Mmol/l como ponto de corte para cetose subclínica, as sensibilidades foram 0,96, 0,90 e 0,99 e as especificidades foram 0,97, 0,98 e 0,98 nos três estudos. Nos Estados Unidos, o medidor pode ser comprado em farmácias (U\$ 10,00 a U\$ 15,00) e as tiras reagentes nas lojas de suprimentos veterinários (cerca de U\$ 1,30 por tira). No Brasil o medidor (R\$ 89,00 a R\$ 98,00) e as tiras (R\$ 2,70 a R\$ 3,80) são encontrados em farmácias e lojas de materiais hospitalares.

Oetzel e McGuirk (2007) recomenda que quando a amostra for enviada para um laboratório e será determinado o BHBA sérico, deve ser usado um valor de 1,4 mmol/l como ponto de corte, e uma prevalência maior de 10% deve ser considerada como nível de alarme no

rebanho. Entretanto, no medidor usado ao lado da vaca, a leitura de BHBA será ligeiramente mais baixa, e ponto de corte recomendado é 1,2 mmol/l (Oetzel e McGuirk, 2007).

No Brasil, Fraga *et al.* (2011), em um estudo realizado no estado de São Paulo, confirmou a acurácia e precisão do método com o aparelho portátil, tanto em sangue venoso quanto em sangue capilar da face interna da orelha. Porém, recomenda a avaliação em sangue venoso, devido à necessidade de melhor contenção do animal para a coleta da amostra de sangue de capilar da face interna da orelha.

O diagnóstico precoce de cetose subclínica permite uma intervenção e tratamento mais cedo da enfermidade, diminuindo seu impacto no sistema de produção. Além disso, os resultados dos testes podem ser utilizados numa base de rebanho para determinar o nível de cetose subclínica e indicar a necessidade de novas investigações e gerenciamento de melhorias (Anderson, 1988; Duffield, 2000). A detecção precoce, utilizando um teste rápido ao lado da vaca, de BHBA e pronto tratamento por via oral com propilenoglicol reduz significativamente as perdas associados com cetose (McArt *et al.*, 2011; McArt *et al.*, 2012).

O monitoramento de AGNE e BHBA possui o momento de maior importância durante a última semana antes do parto e nas primeiras duas semanas após o parto, respectivamente. Não é comum vacas apresentarem cetose subclínica no pré-parto, pois o início da desordem envolve o estímulo homeorrético relacionado com o início da produção de leite. Segundo Duffield e Leblanc (2009) as duas primeiras semanas após o parto é o período de maior incidência. No entanto, as vacas começam a mobilizar reservas energéticas nas últimas semanas antes do parto. Isto pode ser mensurado com a dosagem de AGNE no soro (Leblanc *et al.*, 2005).

O monitoramento de parâmetros metabólicos sanguíneos pode ser uma importante ferramenta no gerenciamento do manejo no período de transição em fazendas leiteiras. Deve ser considerado como mais um recurso para avaliação e identificação de problemas e não como o único recurso. São de extrema importância a observação do ambiente e conforto (sombreamento, espaço de cocho, densidade animal, cobertura vegetal), do manejo nutricional e alimentar, aliado a uma boa investigação e informação da situação de rebanho, somado a um bom exame clínico.

A utilização de um aparelho portátil para avaliar e monitorar a cetose, que forneça resultados confiáveis e rápidos, é de grande valia para a rotina de rebanhos. É relevante e necessário o acompanhamento e monitoramento da saúde e do conforto das vacas durante o período de transição (Oetzel e McGuirk, 2007; Oetzel, 2010; LeBlanc, 2010).

A utilização deste aparelho portátil permite avaliar e monitorar a cetose subclínica, com resultados confiáveis e rápidos, altamente sensível e específico, de fácil utilização e razoavelmente econômico, sendo de grande valia para a rotina de rebanhos (Oetzel, 2010).

2.4. Metabolismo proteico

O metabolismo proteico pode ser influenciado pela nutrição, o parto e a lactação, além das estações do ano e das doenças infecciosas (Contreras, 2000). Dentre os indicadores do metabolismo sanguíneos que representam o metabolismo proteico estão às proteínas totais e albumina.

2.4.1. Proteínas totais

As proteínas são sintetizadas principalmente pelo fígado e suas alterações na circulação sanguínea podem estar associadas a muitos processos patológicos (Kaneko *et al.*, 2008). Cerca de 80% das proteínas corporais estão estocadas na musculatura estriada, esqueleto e pele, e taxa de síntese está diretamente relacionada com a capacidade de função hepática e o estado nutricional do animal (Payne e Payne, 1987; Kaneko *et al.*, 2008).

Moraes *et al.* (1997) encontraram diminuição de concentração sérica de proteína total com aproximação do parto, e relacionaram com a mobilização de imunoglobulinas (IgG) para composição do colostro.

A redução das proteínas totais na corrente sanguínea pode estar relacionada com problemas hepáticos, transtornos renais ou intestinais e deficiência alimentar (Payne *et al.*, 1970; Contreras, 2000; Kaneko *et al.*, 2008). Porém, nos casos de desidratação e infecções crônicas os valores de proteína total estão aumentados (Kerr, 2002). O nível normal de proteína total no soro de bovinos está entre 6,8 e 8,6 g/dL (Simth, 2009).

2.4.2. Albumina

A albumina é sintetizada no fígado e representa de 50% a 65% da proteína total circulante (Kaneko *et al.*, 2008; Smith, 2009). Além de ser uma importante reserva proteica, atua no transporte de ácidos graxos livres e aminoácidos, sendo importante na regulação do pH sanguíneo (Kaneko *et al.*, 2008). Smith (2009) recomenda o valor de referência 2,5 a 3,6 g/dL para concentração de albumina.

Esta concentração pode ser afetada pelo funcionamento hepático, deficiência proteica na dieta e perda durante enfermidades. Segundo Contreras (2000) a redução da capacidade de síntese hepática pode estar reduzida com o acúmulo de gordura no órgão. Nos processos inflamatórios e de doenças infecciosas também ocorre redução na concentração de albumina circulante (Kaneko *et al.*, 2008). Uma menor concentração de albumina está associada com baixa produção de leite, em quantidade e em teor de sólidos (Payne e Payne, 1987). Entretanto, em situações de desidratação há aumento de concentração da albumina (Gonzales e Rocha, 1998).

Moorby *et al.* (2000) e Park *et al.* (2010) relatam que, durante o período de transição, as alterações nos valores de concentrações

de albumina podem estar relacionadas à repartição da proteína para glândula mamária e preparação da lactação, além de síntese hepática. Para Bell (1995) o aumento que ocorre após o parto é relacionado ao aumento da síntese proteica que ocorre no período.

No entanto, Fagliari *et al.* (1998) e Garcia (2010) não encontraram diferenças nos níveis de concentração de albumina entre o parto até 30 dias após. Porém, valores menores de albumina no dia do parto e posterior aumento, foram descritos por Feitosa e Birgel (2000). Este resultado é distinto do encontrado por Gonçalves e Kozicki (1997), descrevendo uma redução dos níveis séricos de albumina.

2.5. Metabolismo mineral

Os minerais, apesar de serem fundamentais para a homeostase do organismo, sofrem alterações em suas concentrações durante o período de transição (Goff, 2006).

A crescente demanda nutricional no final de gestação (Bell, 1995), a produção de colostro e queda acentuada da ingestão de matéria seca (Bell, 1995; Grummer, 1995; Drackley, 1999) faz com que muitas vezes as concentrações séricas dos minerais estejam abaixo dos níveis fisiológicos

(Goff, 2006a), levando os animais a apresentarem hipocalcemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia (Horst, 1986; Horst *et al.*, 1996; Goff, 2008; Duffield *et al.*, 2009; Goff, 2009;).

Segundo Goff (2008), 25% das novilhas e aproximadamente 50% das vacas estarão nesta situação após o parto, apresentando níveis plasmáticos de cálcio abaixo de 8 mg/dl. A queda dos níveis de cálcio e dos outros minerais são os fatores de risco para a ocorrência de retenção de placenta, deslocamento de abomaso, cetose, além de outros transtornos reprodutivos e indiretos para causas de descarte (DeGaris e Lean, 2008). Em alguns casos esta queda é rapidamente revertida, porém em muitos são precisos dias para que os níveis dos minerais voltem ao normal.

2.5.1. Cálcio

O cálcio (Ca) é um componente essencial do organismo. Aproximadamente 98% do cálcio está localizado no esqueleto, com responsabilidade estrutural e de dureza aos ossos. Outros 2% deste estão no líquido extracelular atuando na transmissão de impulsos nervosos, na contração muscular, coagulação sanguínea, como componente

do leite e na atividade enzimática (Nutritional..., 2001).

Na vaca adulta, a concentração sérica de cálcio está em torno de 8,5 a 10 mg/dl (Littledike e Goff, 1987; Goff, 2004, 2008). Para manter a homeostase e evitar a diminuição do cálcio circulante, que apresenta graves consequências para os processos vitais, o animal remove cálcio dos ossos e aumenta a eficiência de absorção na dieta (Goff, 1997a,b).

Esta homeostase do cálcio é regulada pela calcitonina, paratormônio e 1,25-dihidroxitamina D (Littledike e Goff, 1987; DeGaris e Lean, 2008). O controle da absorção de cálcio é feito pela ação do paratormônio (PTH) e 1,25-dihidroxitamina D₃, enquanto a calcitonina é responsável pela redução dos níveis de cálcio, aumentando a excreção urinária e a deposição de cálcio nos ossos (Littledike e Goff, 1987; Kaneko *et al.*, 2008; Goff, 2009b). O paratormônio, produzido na paratireoide e secretado quando ocorre diminuição dos níveis séricos de cálcio, é responsável pela reabsorção de cálcio dos ossos, ativação da reabsorção tubular renal, atuando também no aumento da excreção de fósforo. Enquanto o hormônio 1,25 dihidroxivitamina D₃ é produzido nos rins a partir da vitamina D, em resposta a um

aumento do paratormônio no sangue (Goff, 2000, 2009b). Sua função é aumentar o transporte ativo do cálcio e fosforo através das células epiteliais do intestino pelo aumento do número de receptores a estes minerais na superfície celular (Horst *et al.*, 1983).

Quando as concentrações séricas de cálcio estão baixas, principalmente próximo ao parto, ocorre à liberação do paratormônio para aumentar a reabsorção óssea e ativar 1,25-dihidroxitamina D, que irá promover o aumento da reabsorção tubular renal e a absorção intestinal de cálcio (DeGaris e Lean, 2008; Taylor *et al.*, 2008; Goff, 2009b).

Os mecanismos homeostáticos de cálcio são ativados em períodos de BEN, permitindo a vaca absorver o mineral de maneira eficiente a partir da dieta e a partir dos ossos, após o parto (Green *et al.*, 1981; Horst *et al.*, 1983; Horst, 1986). De acordo com Goff e Horst (1997a) o paratormônio é capaz de prevenir paresia da parturiente porque ele estimula a reabsorção de cálcio nos ossos e favorece sua absorção intestinal.

Entretanto, em algumas situações estes mecanismos podem falhar e ocorrer hipocalcemia (Nutritional..., 2001). Segundo Reinhardt *et al.* (1988) vários são os fatores que podem interferir na

homeostase do cálcio, como a composição da dieta, idade, sexo e raça.

Próximo ao parto e especialmente no dia do parto é observado uma diminuição dos níveis de cálcio circulante, promovida pela perda ao parto e pela alta demanda para síntese do leite (Goff e Horst, 1997; Buture, 2009; Souza Junior *et al.*, 2011; Moreira, 2013). A hipocalcemia e a febre do leite ocorrem quando os bovinos não removem cálcio suficiente de seus ossos e dieta para repor o cálcio perdido no leite (Goff, 2000). Como consequência, o animal pode apresentar hipocalcemia, considerada como fator de risco para desordens como deslocamento de abomaso e cetose, devido à diminuição das contrações da musculatura lisa, fundamental para função normal do trato digestivo (Goff e Horst, 1997).

Dietas com altos níveis de cálcio durante o pré-parto favorecem para que o animal apresente redução na concentração de cálcio no dia do parto e no dia seguinte. O contrario é observado em animais que recebem dieta com baixos níveis de cálcio. Estas observações foram feitas por Green *et al.* (1981), que encontraram menor incidência de febre do leite em animais que recebiam dietas com menor nível de cálcio. Segundo Horst *et al.* (1996) dietas com quantidades menores de cálcio estimula a produção de paratormônio e os mecanismos

homeostáticos antes do parto. Assim, a vaca absorve cálcio da dieta de lactação e remove dos ossos de maneira eficiente após o parto.

Diminuição nas concentrações plasmáticas de cálcio e aumento de paratormônio em vacas parturientes foi observado por Mayer *et al* (1969), demonstrando a atividade da glândula. No processo de parto o animal de aptidão leiteira necessita maior demanda por cálcio e fósforo, podendo até superar a mobilização destes minerais no organismo e ocorrer hipocalcemia e hipofosfatemia (Bell, 1995; Horst *et al.*, 1996; Goff, 2004). Há uma grande quantidade de cálcio e fósforo presente no colostro e no leite (Goff, 2004) e no início de lactação a maioria dos animais podem estar em balanço negativo de cálcio, apresentando alguma redução nos níveis de cálcio circulante principalmente nos 10 primeiros dias (Goff, 1996).

A hipocalcemia subclínica contribui para inapetência em vacas recém-paridas e predispõe ao desenvolvimento de outras enfermidades como cetose, retenção de placenta, deslocamento de abomaso, mastite e distocias (Oetzel, 1988; Goff e Horst, 1997; Nutritional ..., 2001).

Horst *et al.* (1996) afirmaram que a idade do animal possui profundo efeito em vários eventos fisiológicos do metabolismo de

cálcio e vitamina D. Assim, animais de primeira lactação podem até experimentar algum grau de hipocalcemia, mas a possibilidade de desenvolverem febre do leite é menor. Com o avançar da idade o processo de adaptação para rápida demanda de cálcio fica mais lento e a consequência para estes animais é hipocalcemia de moderada a grave (Horst *et al.*, 1996).

Segundo Duffield e LeBlanc (2009) o monitoramento da concentração sérica de cálcio é importante na primeira semana da lactação.

Goff (2009) recomenda a administração de solução oral, drench, como medida preventiva de enfermidades no período de transição (hipocalcemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia). Segundo o autor soluções contendo 50 g de carbonato de cálcio, 100 g de fosfato de cálcio, 50 g de cloreto de sódio são efetivas para o controle destas. A adição de 100g de óxido de magnésio tem sido reportada como efetiva e vai fornecer 50 g de magnésio para animal. Pode-se ainda utilizar adição de sódio para aumentar a absorção de magnésio no rúmen (Goff, 2009).

2.5.2. Fósforo

O fósforo (P) é considerado o principal componente mineral dos ossos após o cálcio. Ele está localizado em cada célula do corpo e em quase todas as transações energéticas envolvendo formação ou quebra de ligações de alta energia (Goff, 2000). São componentes de fosfolípidos, fosfoproteínas, ácidos nucleicos e moléculas de transferência de energia como ATP, além de essencial no sistema tampão ácido-base (Goff, 2004).

Segundo Goff (2000) o paratormônio é o responsável em promover a perda renal e salivar de fósforo, acarretando a diminuição de sua concentração sérica. Alguns autores encontraram uma redução dos níveis séricos de fósforo no dia do parto e durante os episódios de hipocalcemia (Reinhardt *et al.*, 1988; Goff e Horst, 1998; Nutritional ..., 2001). Entretanto Souza Junior *et al.* (2011) e De Paula *et al.* (2011) não observaram diferença nos níveis de fosforo entre o pré-parto e o pós-parto. Goff (2000) recomenda o valor de referencia de 4 a 8 mg/dL de fósforo.

2.5.3. Magnésio

O magnésio (Mg) é o principal cátion intracelular, sendo cofator necessário para reações enzimáticas vitais para as principais vias metabólicas, condução normal de impulsos nervosos, função muscular e formação mineral óssea (Nutritional ..., 2001). Não existe controle homeostático do Mg, sendo sua concentração sanguínea reflexo direto da alimentação (Nutritional..., 2001; Goff, 2004). O controle renal de magnésio é direcionado para prevenção da hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. (Gonzales, 2000). Reinhardt *et al.* (1988) recomenda o valor de referência de 1,7 a 3,3 mg/dL.

Segundo Goff (2004, 2008) a hipomagnesemia interfere na homeostase do cálcio, pois o íon Mg^{2+} liga-se a adenilcilase e a fosfolipase C, que são ativadas pelo paratormônio ao se ligar ao seu receptor nos ossos e no rim, e em outros tecidos respectivamente.

No Brasil, Souza Junior (2008); Buture (2009) e Moreira (2013) não encontraram variação nos níveis de magnésio durante o período de transição. Entretanto alguns autores relatam elevação nas concentrações de magnésio no dia do parto (Marquardt *et al.*, 1977; Radostis *et al.*, 2007; Aquino

Neto, 2012), justificado pela menor concentração de cálcio ao parto e estímulo do paratormônio. Diferente de De Paula *et*

al. (2011) que observaram diminuição de sua concentração no dia do parto.

3. EXPERIMENTO 1

AVALIAÇÃO DO PERFIL METABÓLICO DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO.

3.1. Introdução

O período de transição é um momento de grande desafio para vacas de aptidão leiteira (Grummer, 1995; Drackley, 1999; Burhans *et al.*, 2003; Drackley *et al.*, 2005), uma vez que a maioria dos problemas metabólicos ocorre nesta fase e podem prejudicar toda a expectativa de produção durante a lactação (Grummer, 1995; Dann *et al.*, 1999; Drackley, 1999) resultando em impacto econômico significativo para fazendas comerciais de produção de leite (Burhans *et al.*, 2003).

As alterações que ocorrem no organismo animal durante o período de transição são adaptativas, e tem o intuito de preparar a vaca para o final da gestação e o início da lactação (Bell, 1995; Drackley, 1999; Wittwer, 2000b; Roche *et al.*, 2009). A finalidade é a disponibilização de nutrientes para o bezerro (Bell, 1995; Drackley, 1999). O metabolismo energético é influenciado

pelas alterações endócrinas, pela diminuição no consumo de alimentos e maior demanda por nutrientes, o que induz a mobilização de tecido adiposo (Bauman e Currie, 1980; Bertics *et al.*, 1992; Vazquez-Anon *et al.*, 1994; Bell, 1995; Grummer, 1995; Grum *et al.*, 1996; Drackley, 1999). O déficit energético entre a energia ingerida através dos alimentos e a energia utilizada pelo organismo para manutenção e produção caracteriza o balanço energético negativo (BEN) (Butler *et al.*, 1981; Villa Godoy *et al.*, 1988; Grant e Albright, 1995; Grummer, 1995; Drackley, 1999; Baumgard *et al.*, 2006).

O fígado é o órgão responsável pela identificação de necessidades nutricionais de todos os tecidos do organismo e atua ajustando o seu metabolismo para atender a demanda (Seifert e Englard, 1994; Drackley *et al.*, 2005). Com tantas funções e atividades, quando ocorre lesão tecidual ou mudanças no metabolismo hepático, há

modificação nos componentes dos fluidos circulantes (Kaneko *et al.*, 2008; Stochkam, e Scoth, 2008). O aumento da atividade de enzimas hepáticas, como aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH), pode ser utilizados como indicador destas alterações (Kaneko *et al.*, 2008).

O metabolismo proteico pode ser influenciado pela nutrição, pelo processo de parto e pela lactação, além das estações do ano e de doenças concomitantes (Contreras, 2000), sendo que as proteínas totais e a albumina são indicadores deste metabolismo.

Os minerais apresentam alterações em suas concentrações sanguíneas durante o período de transição (Goff, 2006). A crescente demanda nutricional no final de gestação (Bell, 1995), a produção de colostro e queda acentuada da ingestão de matéria seca (Bell, 1995; Grummer, 1995; Drackley, 1999) fazem com que, muitas vezes, as concentrações séricas dos minerais estejam abaixo dos níveis fisiológicos (Goff, 2006a), levando os animais a apresentarem hipocalcemia, hipofosfatemia e hipomagnesemia (Horst *et al.*, 1996; Goff, 2008; Duffield e LeBlanc, 2009; Goff, 2009b).

Com o intuito de detectar os problemas precocemente a fim de imediata intervenção

ou acompanhamento de situação, surgem os programas de monitoramento de saúde do rebanho (Oetzel e McGuirk, 2007; LeBlanc, 2010; Oetzel, 2010). A análise do perfil metabólico permite avaliar a condição energética, proteica e mineral dos animais (Payne *et al.*, 1970; Payne e Payne, 1987; Gonzales, 2000; Wittwer, 2000a,b). Assim, possibilita analisar mudanças e ajustes que possam ser imprescindíveis para minimizar a prevalência e incidência de enfermidades durante o período de transição (LeBlanc *et al.*, 2006; Goff, 2009b; Duffield e LeBlanc, 2009).

O objetivo deste experimento foi avaliar o perfil metabólico de vacas da raça holandesa durante o período de transição, através de mensurações de concentrações séricas de: ácidos graxos não esterificados, beta hidroxibutirato, colesterol, cálcio, fósforo, magnésio, proteína total, albumina e as hepáticas AST e LDH.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Local, período e condições climáticas.

O experimento foi realizado em uma fazenda comercial de produção leiteira, localizada no município de Inhaúma, Minas Gerais, a 86 km de Belo Horizonte. A

propriedade possui área de 1.100 hectares com 1.170 vacas em lactação com média de produção de leite de 27 kg/dia, 8.235 kg na lactação (305 dias) e produção total de 33.000 litros de leite / dia. O sistema de produção é intensivo, com os animais em confinamento do tipo “free-stall”.

O trabalho foi realizado entre os meses de outubro a dezembro de 2012. Durante este período a temperatura ambiental média para a região de Inhaúma, segundo INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), era 24,85° C com máxima de 34,1° C e mínima de 13,8° C. A precipitação pluviométrica média foi de 171,2 mm/mês. Durante três dias consecutivos (13, 14 e 15 de novembro) foram realizadas avaliações da temperatura ambiente, com aparelho portátil digital, sempre às 13:00 horas, em dois locais distintos de manejo (ambiente interno – galpão free-stall pré e pós parto, onde estavam instalados os animais e ambiente externo – fora do galpão). A média foi de 30° C no ambiente externo e 26° C no interior do galpão.

3.2.2. Animais

Foram utilizadas doze vacas da raça Holandesa que estavam entre a segunda e a quarta lactação. Estes animais foram

avaliados no período de três semanas antes do parto e nos dias dois, cinco, 15 e 21 após o parto. As condições e rotina de manejo adotadas pela propriedade foram mantidas durante todo o período de realização do experimento.

3.2.3. Ambiente e manejo

A secagem dos animais era realizada com 60 dias antes da data prevista de parto, conforme o controle zootécnico da propriedade. Neste momento fazia-se avaliação de escore corporal (1 a 5), além dos cuidados sanitários preventivos como terapia de vaca seca e toailete dos cascos.

Trinta dias antes da data prevista para o parto os animais eram conduzidos para o lote de pré-parto, sendo manejados em galpão free-stall com acesso a piquete. Primíparas e multíparas eram manejadas separadamente. Neste local eram observados durante 24 horas e os partos eram supervisionados e auxiliados quando necessário.

A alimentação consistia de dieta total perfazendo 12,2 kg de MS/animal/dia sendo composta por silagem de milho (69,5%), tifton verde (8,27%), farelo de soja (10,90%), milho moído (3,6%) e mistura pré-parto (7,7%). Contendo 15% de

proteína bruta, 0,78% Ca, 0,42% P, 0,53% Mg, 1,17%K, 0,48% S, 0,08% Na, 0,60% de Cl, 42,80% FDN e 30,92% CNF.

A diferença cátion-aniônica (DCAD) da dieta foi de -17,54 mEq/100g de matéria seca. A dieta era fornecida uma vez ao dia pela manhã, distribuída em pista de alimentação com área linear de 70 cm por animal.

Logo após o parto as vacas recebiam por via oral, através de sonda esofagiana, 30 a 40 litros de solução (Drench) contendo 100g de cloreto de potássio, 200g de sulfato de magnésio, 100g de cloreto de potássio e 300 ml de propilenoglicol.

No pós-parto os animais eram transferidos para outro galpão free-stall, conhecido como galpão de “checagem”, onde permaneciam entre 10 – 20 dias e eram inspecionados diariamente por um funcionário específico. Neste local, primíparas e múltiparas eram manejadas separadamente. A dieta total era fornecida em pista de trato duas vezes ao dia e eram realizadas três ordenhas diárias, com intervalos de 8 horas.

Os galpões, do pré-parto e do pós-parto proporcionavam uma área de 7 metros quadrados por animal, com camas para cada animal e possuíam ventiladores e aspersores de água ao longo da pista de alimentação,

assim como na sala de espera para a ordenha, com o objetivo de proporcionar conforto térmico aos animais. Cada galpão possuía uma área de solário de chão batido adjacente.

3.2.4. Coleta de material

Para realização do perfil metabólico dos animais as amostras de sangue (5 ml) foram colhidas através de punção de veia jugular após antissepsia local com álcool iodado a 2%, em dois tubos *vacutainer* siliconizados com gel ativador de coágulo, devidamente identificados. Em seguida os tubos eram acondicionados em uma caixa de isopor contendo barras de gelo reciclável para transporte.

As coletas foram realizadas de acordo com a data prevista para o parto, conforme controle zootécnico da propriedade.

Iniciou-se três semanas pré-parto com coletas semanais até o dia do parto, seguido de uma coleta ao parto e nos dias dois, cinco, 15 e 21 após o parto, sendo oito coletas por animal (8 tempos) e 96 amostras no total. As colheitas de sangue foram realizadas 4 - 5 horas após a primeira alimentação do dia.

3.2.5. Análises bioquímicas

No Laboratório de Clínica de Ruminantes da Escola de Veterinária da UFMG, as amostras eram centrifugadas pelo tempo de 10 minutos a 3.800 RPM. Na sequência o soro era fracionado e armazenado em quatro eppendorfs de 0,5 ml, identificados e congelados a -20° C.

As análises do soro foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG em analisador bioquímico, aparelho automático, COBAS Mira Plus^{®4}. Foram utilizados kits comerciais RANDOX^{®5} para dosagens de AGNE e BHBA e SYNERMED^{®6} para colesterol, Ca, P, Mg, albumina, proteína total, AST e LDH.

⁴ COBAS Mira Plus[®] - Aparelho de espectrofotometria automático produzido pela ROCHE - 0800 772 0295, <http://www.roche.com.br>

⁵ RANDOX[®] - fabricado por RANDOX – Reino Unido. Importado e distribuído por RANDOX Brasil Ltda. Rua Fernandes Moreira 411 / 415, São Paulo – SP. CEP 04716-000. Tel.: 01151812029.

⁶ SYNERMED[®] - distribuído por SYNERMED SYNERMED Brasil Ltda. Rua Ccicinetto Braga 59, Quadra A2, Bela Vista, São Paulo – SP. CEP 01333-011. Tel.: 01132863288.

3.2.6. Análise estatística

As variáveis estudadas foram: AGNE, BHBA, colesterol, Ca, P, Mg, albumina, proteína total, AST e LDH em relação aos oito tempos no período de transição (-3 semanas, - 2 semanas, - 1 semana antes do parto, o dia do parto, 2, 5, 15 e 21 dias após o parto). Para a avaliação do perfil metabólico utilizou-se o delineamento em bloco ao acaso, conforme modelo abaixo:

Modelo matemático: $Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$, em que:

Y_{ij} = observação do tempo i no bloco j ;

μ = efeito médio geral;

T_i = efeito do tempo i , sendo 3, 2, 1, 0, 2, 5, 15 e 21 momento de avaliação;

B_j = efeito do bloco j , sendo $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11$ e 12 animais;

e_{ij} = erro aleatório da observação do tempo i no bloco j .

Inicialmente, utilizou-se o teste de Lilliefors e Bartlett para verificar da normalidade e homocedasticidade das variáveis, respectivamente, sendo o procedimento de transformação dos dados utilizado quando as variáveis violaram estas condições. Observado uma distribuição anormal, a variável foi submetida à transformação logarítmica ou para raiz ($AST1 = \log(AST)$),

COLEST1=log(COLEST),

MAG1=log(MAg+0,5) e

AGN1=raiz(AGN)). As médias entre os momentos de colheita foram comparadas pelo teste de Scott-Knott com 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os procedimentos do SAEG 9.1 (Sistema..., 2007).

Para avaliação da relação entre as variáveis estudadas foi realizada análise multivariada dos componentes do perfil metabólico no sistema Infostat.

3.3. Resultados e discussão

3.3.1. Perfil metabólico energético

As concentrações médias de AGNE e BHBA apresentaram aumento significativo ($p<0,05$) no período pós-parto em relação ao pré-parto. Estes resultados estão apresentados na tabela 1 e seus comportamentos estão representados na figura 1.

Tabela 1: Concentrações séricas médias (mmol/L) de AGNE e BHBA de vacas multíparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.

		Período de transição							
		-3 sem	-2 sem	-1 sem	Parto	2 dias	5 dias	15 dias	21 dias
AGNE	Média	0,16 ^B	0,15 ^B	0,16 ^B	0,36 ^A	0,36 ^A	0,44 ^A	0,36 ^A	0,32 ^A
	SD	±0,31	±0,50	±0,78	±0,20	±0,18	±0,22	±0,16	±0,16
BHBA	Média	0,42 ^B	0,40 ^B	0,39 ^B	0,44 ^B	0,59 ^A	0,68 ^A	0,57 ^A	0,64 ^A
	SD	±0,16	±0,21	±0,14	±0,12	±0,22	±0,24	±0,25	±0,15

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

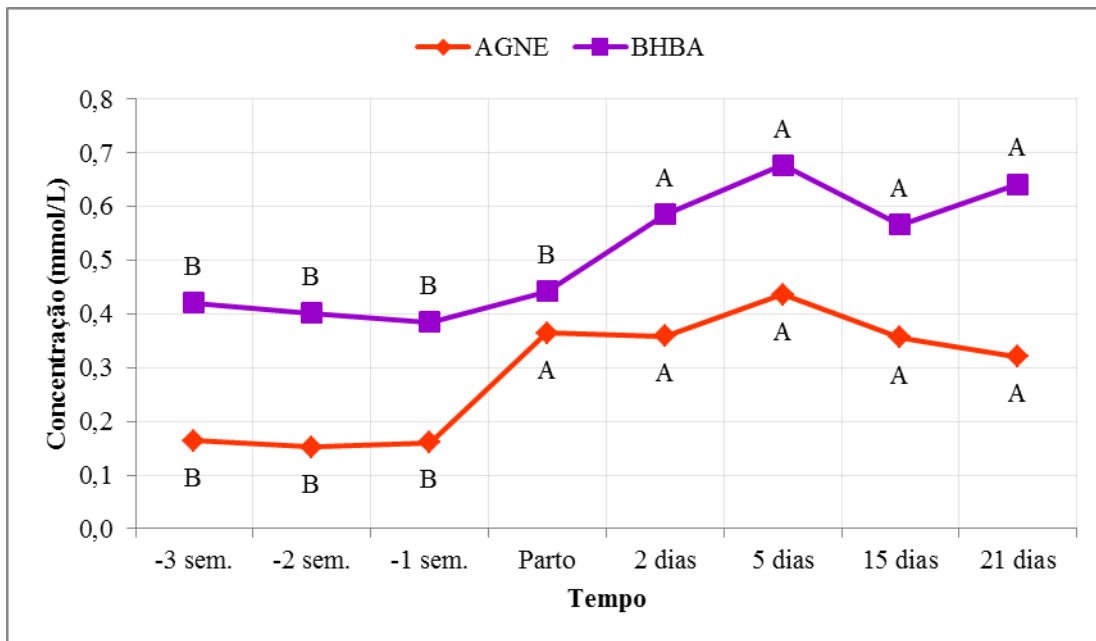


Figura 1: Comportamento das concentrações séricas médias (mmol/L) de AGNE e BHBA de vacas multíparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Com relação ao AGNE, não houve diferença estatística entre os momentos do período pré-parto, assim como entre os tempos do período pós-parto ($p > 0,05$). Entretanto, houve diferença entre o pré-parto e o pós-parto ($p < 0,05$). Os valores de AGNE permaneceram próximos a 0,2 mmol/L no pré-parto e aumentaram no dia do parto mantendo-se em torno de 0,4 mmol/L. Nenhum animal apresentou valor superior a 0,4 mmol/L no pré-parto e apenas um animal teve valor superior a 0,7 mmol/L após o parto. Estes resultados

indicam que neste rebanho ocorreu um balanço energético negativo (BEN) de baixa intensidade e que os animais não tiveram níveis de AGNE considerados como fator de risco para a saúde das vacas no período pós-parto.

O aumento dos valores de AGNE observado a partir do dia do parto é descrito por vários autores (Schwlm e Schultz, 1976; Guretzky *et al.*, 2006; Lien *et al.*, 2010;) e, segundo (Reynolds *et al.*, 2003), é o reflexo de maior liberação de AGNE para

a veia porta no início da lactação, devido à rápida mobilização de gordura localizada no mesentério e omento das vacas de leite.

Segundo LeBlanc *et al.* (2005) ; Duffied (2009b) e LeBlanc (2010) a concentração de AGNE é reflexo da magnitude de mobilização das reservas corporais e começa aumentar alguns dias antes do parto. A intensidade do BEN em função da diminuição da ingestão de matéria seca e aumento das exigências nutricionais são responsáveis por esta mobilização (Bauman e Currie, 1980; Vazquez-Añon *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1995; Grummer, 1995).

Ao parto ocorre uma mudança no metabolismo do tecido adiposo, o qual passa de lipogênese para lipólise (Bell, 1995). O aumento da concentração sérica de AGNE tem como objetivo o fornecimento de energia para suprir as necessidades do organismo (Bell, 1995). A diminuição da ingestão de matéria seca (Gummer, 1995), o aumento das exigências nutricionais e as alterações hormonais no parto são os principais responsáveis por esta mudança no metabolismo (Vazquez-Añon *et al.*, 1994; Bell, 1995; Grum *et al.*, 1996).

Segundo alguns autores (Cameron *et al.*, 1998, Ospina *et al.*, 2010a,b; Chapinal *et al.*, 2011; Roberts, 2012) os níveis de AGNE acima de 0,4 mmol/L no pré-parto ou acima de 0,7 mmol/L no pós-parto estão

relacionados com maior ocorrência de várias enfermidades no período de transição.

Frigotto (2010) utilizou um ponto de corte de 0,6 mmol/L de AGNE no pós-parto e encontrou 56,2% dos animais acima deste limite no primeiro dia após o parto, 48,6% no quinto dia e 34,3% no décimo dia. Garcia (2010) trabalhou com ponto de corte de 0,7 mmol/L e observou 12,1% de animais acima deste no pós-parto.

As concentrações médias séricas de BHBA apresentadas na tabela 1 e figura 1 demonstram que houve diferença entre de pré-parto e pós-parto ($p < 0,05$). Durante o pré-parto os valores permaneceram constantes e dois dias após o parto houve aumento na concentração de BHBA ($p < 0,05$) circulante.

O BHBA é um dos principais corpos cetônicos produzidos pelo fígado e importante indicador do balanço energético negativo da vaca (Ospina *et al.*, 2010a,b). O aumento da concentração sérica de corpos cetônicos ocorre quando uma quantidade de AGNE excede a capacidade de oxidação pelo fígado (Drackley, 1999; Li *et al.*, 2012). A interação entre AGNE e BHBA pode ser observada pelo comportamento de suas concentrações na figura 1. Os aumentos nas concentrações de BHBA

ocorrem momentos após o aumento das concentrações de AGNE (Busato *et al.*, 2002; Doepel *et al.*, 2002; Cavestany *et al.*, 2005).

A elevação do valor de BHBA após o parto é descrita por vários autores (Doepel *et al.*, 2002; Bertoni *et al.*, 2008; Lien *et al.*, 2010; Cincovic, 2012), que observaram maiores valores na primeira semana pós-parto. Vazques-Añon *et al.* (1994) também encontraram aumento de BHBA no dia seguinte ao parto, porém seu maior valor foi observado no dia dez (10) pós-parto. LeBlanc *et al.* (2005) observou aumento de BHBA uma semana antes do parto, refletindo uma mobilização de reservas corporais precoce. A intensidade do BEN incide nesta mobilização de AGNE e consequentemente na produção de BHBA (Drackley, 1999; Ospina *et al.*, 2010a,b; Li *et al.*, 2012).

A concentração média de BHBA variou de 0,40 mmol/L no pré-parto para 0,62 mmol/L no pós-parto. No Brasil, resultados similares foram relatados por Moreira (2013) com valores de 0,41 mmol/L e 0,68 mmol/L respectivamente.

Não houve diferença na concentração média de BHBA no pós-parto ($p > 0,05$). Resultados diferentes foram encontrados por Chung *et al.* (2008) e por Frigotto (2010) e por, onde valores mais altos de

BHBA ocorreram no quinto dia após o parto. Segundo LeBlanc *et al.* (2005) a concentração de BHBA aumenta ligeiramente nos últimos três dias que antecedem o parto, mas seu aumento é expressivo após o parto, atingindo o pico no quinto dia de lactação. Garcia (2010) e Moreira (2013) encontraram a maior concentração sérica média no quinto dia após o parto, sendo $0,59 \pm 0,76$ e $0,79 \pm 0,77$ mmol/L.

Valores superiores 1,2mmol/L são indicativos de cetose subclínica e estão relacionados com diminuição da saúde do rebanho (Oetzel, 2004). Apenas um animal apresentou o valor 1,1 mmol/L no quinto dia pós-parto, e outro 1,15 mmol/L aos quinze (15) dias após o parto, podendo-se dizer que nenhum animal apresentou cetose subclínica.

Moreira (2013) encontrou a maior concentração média de BHBA no dia cinco (5) após o parto, juntamente com a maior frequência de cetose subclínica (13,3% no verão e 9,68% no inverno). Garcia (2010) trabalhou com ponto de corte de 1,4 mmol/dL BHBA e relatou 24% de cetose subclínica.

Os resultados de AGNE e BHBA deste experimento são reflexos da adaptação ao balanço energético e demonstram um risco pequeno para o desenvolvimento de

distúrbios do metabolismo energético. Entretanto, servem como um alerta para o sistema de produção e demonstram a importância de realização do monitoramento.

As concentrações séricas médias de colesterol variaram entre os momentos. No pré-parto, exibiram valores semelhantes até a segunda semana, declinando a partir da primeira semana ($p < 0,05$) e mantendo-se estável até o quinto dia pós-parto. A partir daí apresentou aumento progressivo, atingindo seu maior valor 21 dias após o

parto. Observa-se que há diminuição na concentração sérica média do colesterol com aproximação do parto e posterior aumento. No dia do parto ocorreu o menor valor da concentração de colesterol circulante, 79,86 mg/dL, e a maior concentração (150,34 mg/dL) ocorreu no 21º dia após o parto. Estes resultados estão apresentados na tabela 2 e na figura 2.

Tabela 2: Concentração sérica média (mg/dL) de colesterol de vacas pluríparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.

		Período de transição							
		-3 sem	-2 sem	-1 sem	Parto	2 dias	5 dias	15 dias	21 dias
Colesterol	Média	101,64 ^C	95,50 ^C	86,59 ^D	79,86 ^D	82,16 ^D	89,26 ^D	128,12 ^B	150,34 ^A
	SD	±20,81	±13,43	±20,56	±16,86	±17,68	±12,95	±33,11	±32,73

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

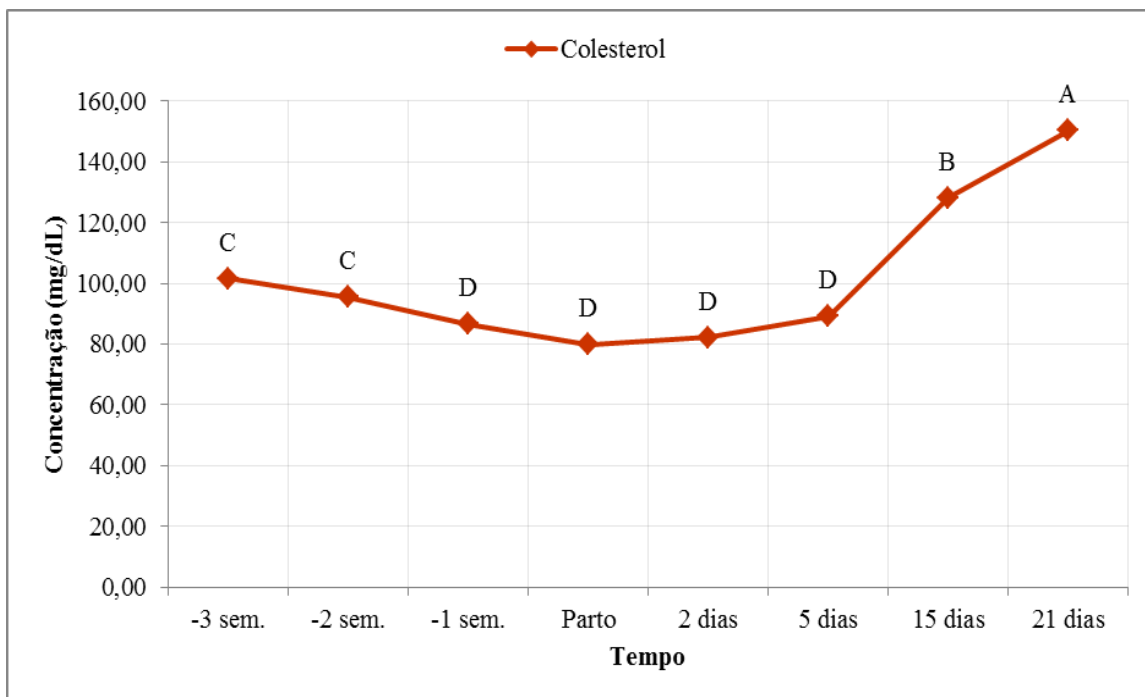


Figura 2: Comportamento da concentração sérica média (mg/dl) de colesterol de vacas pluríparas da raça Holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

A intensidade da diminuição da concentração média de colesterol no pré-parto e a concentração média no dia do parto sugere uma diminuição moderada no consumo.

A diminuição na síntese de colesterol ocorre quando há restrição alimentar, levando a menor concentração de insulina e aumento de glucagon. Por isso, normalmente a concentração de colesterol está ligada à ingestão de alimentos, havendo um comportamento similar entre

estes. Com a aproximação do parto ocorre diminuição na ingestão de matéria seca (Grummer, 1995) e na concentração de colesterol. Da mesma forma, o aumento da ingestão de matéria seca no pós-parto promove o incremento na concentração de colesterol (Guretzky *et al.*, 2006; Stengård *et al.*, 2008).

Segundo Guretzky *et al.*, (2006) a concentração de colesterol inferior a 77,34 mg/dL esta associada a baixo consumo voluntário ou a problemas metabólicos

(Grummer, 1993; Grum et al, 1996). Kaneko *et al.* (2008) recomenda o limite de 80 mg/dL.

No Brasil, Pogliani e Birgel Junior (2007) realizou um estudo com bovinos da raça holandesa no estado de São Paulo e encontrou valores entre 94,63 mg/dL a 146,93 mg/dl para vacas com 6 a 9 meses de gestação, e 94,06 mg/dl a 127,03 mg/dL para animais no pós-parto.

O aumento do cortisol próximo ao parto é outro fator que contribui para diminuição na concentração do colesterol. O glicocorticoide inibe a atividade enzimática no processo de síntese do colesterol, a 3-hidroxi-3metilglutaril-CoA redutase (Kaneko *et al.*, 2008).

A redução dos níveis de colesterol com a aproximação do parto e seu aumento no pós-parto foi relatada por alguns autores (Schwalm e Schultz, 1976; Van den Top *et al.*, 1995b, 1996; Kaneene *et al.*, 2008). Stengärde *et al.* (2008) e Van Dorland *et al.* (2009) encontram resultados semelhantes, relacionando o aumento de colesterol após o parto ao aumento de consumo com elevação da captação de lipídeos pelo fígado e melhora no balanço energético negativo. Garcia (2010), trabalhando com vacas da raça Holandesa de produção média diária de 32 litros, encontrou comportamento similar ao deste estudo,

com 88,16 mg/dl na primeira semana pré-parto e 136 mg/dL na quarta semana após o parto.

Altas concentrações de colesterol em vacas no pós-parto fazem parte do processo fisiológico. O aumento de mobilização tecidual promovida pela demanda energética e o aumento da síntese de lipoproteínas e hormônios esteroides são os responsáveis por este processo (Margolles, 1983; Aeberhard *et al.*, 2001).

Os resultados de AGNE, BHBA e colesterol encontrados no presente estudo demonstram que os animais apresentaram um balanço energético negativo discreto, indicando possivelmente que as medidas adotadas pela propriedade em relação ao manejo nutrição e conforto (densidade animal, espaço de cocho, climatização nos galpões) das vacas neste período estão atendendo as necessidades dos animais.

3.3.2. Metabolismo proteico

As concentrações séricas médias de proteína total e albumina não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os momentos pré e pós-parto (Tabela 3, Figura 3).

Tabela 3: Concentrações séricas médias (g/dL) de proteína total e albumina de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.

		Período de transição							
		-3 sem	-2 sem	-1 sem	Parto	2 dias	5 dias	15 dias	21 dias
Proteína total	Média	9,68 ^A	9,56 ^A	9,28 ^A	9,67 ^A	9,39 ^A	9,54 ^A	10,34 ^A	10,90 ^A
	SD	±1,72	±2,22	±1,38	±1,6	±1,99	±2,49	±1,95	±2,4
Albumina	Média	3,08 ^A	3,12 ^A	3,17 ^A	3,43 ^A	3,33 ^A	3,14 ^A	3,02 ^A	3,15 ^A
	SD	±0,48	±0,52	±0,56	±0,54	±0,58	±0,67	±0,60	±0,56

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

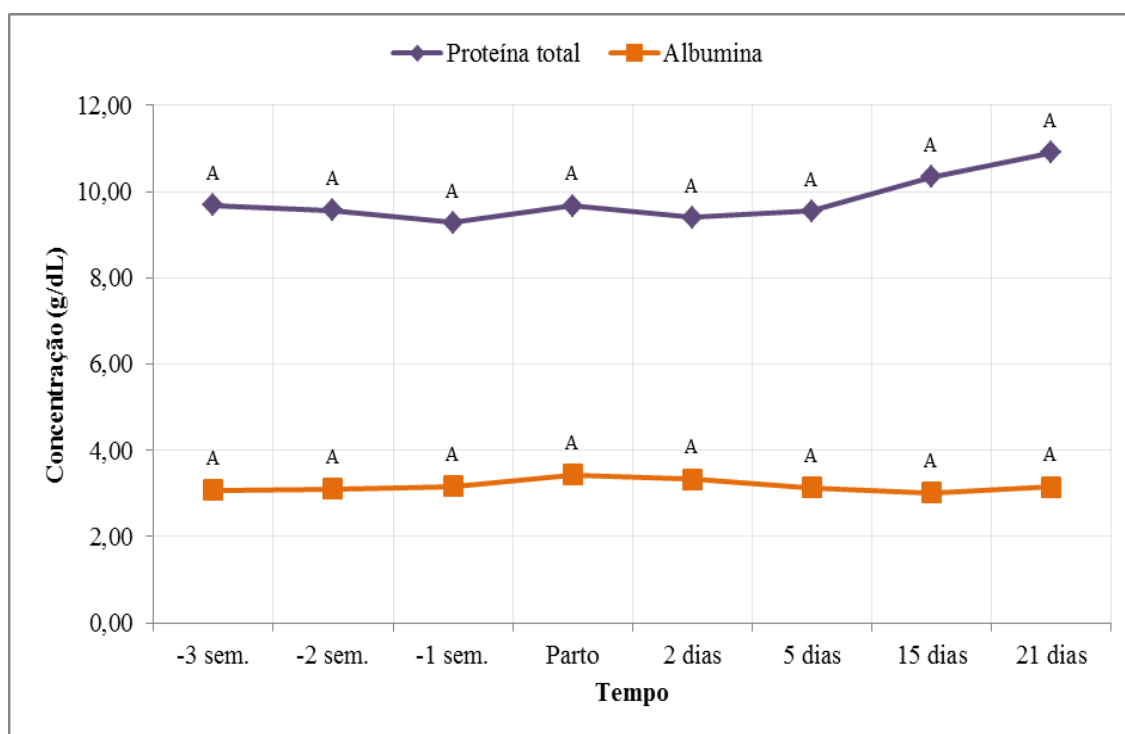


Figura 3: Comportamento das concentrações séricas médias (g/dl) de proteína total e albumina de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Os valores de proteína total permaneceram praticamente constantes entre os momentos e situados acima do limite superior do valor de referência de 6,8 a 8,6 g/dL (Smith, 2006). Apenas dois animais apresentaram hipoproteinemia na terceira semana pré-parto e no quinto dia após o parto, com valores de 6,2 e 6,30 g/dL respectivamente.

Não foi observado alteração na concentração de proteína total. Embora sua diminuição próxima ao parto seja descrita por Moraes *et al.* (1997), devido à mobilização de imunoglobulinas para composição do colostro, principalmente IgG.

As concentrações séricas médias de albumina também não apresentaram diferenças entre os momentos e permaneceram dentro dos valores de referência 2,5 a 3,6 g/dL (Smith, 2006). Quatro animais apresentaram hipalbuminemia durante um único momento com valores próximos de 2,3 g/dL.

O comportamento da albumina no período de transição é descrito na literatura com vários resultados distintos, não havendo uma concordância ou um comportamento típico. Fagliari *et al.* (1998) e Garcia (2010) também não encontraram diferenças nos valores de albumina entre o parto até 30

dias após, entretanto Feitosa e Birgel (2000) observaram valores menores de albumina no dia do parto com posterior aumento. Gonçalves e Kozicki (1997) descreveram diminuição dos níveis séricos de albumina pós-parto.

As alterações nos valores de concentrações de albumina podem estar relacionadas à repartição da proteína para glândula mamária e preparação da lactação, além da síntese hepática (Moorby *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2010). O aumento de sua concentração após o parto é provavelmente devido ao aumento da síntese proteica que ocorre neste período (Bell, 1995). Além da desidratação e do estresse calórico, fatores que podem aumentar as concentrações de albumina devido à hemoconcentração.

3.3.3. Enzimas hepáticas

As atividades das enzimas AST e LDH demonstraram aumento após o parto ($p < 0,05$). Ocorreu aumento da atividade enzimática no dia do parto e permaneceu alta no pós-parto em relação ao pré-parto. Entretanto os valores de AST e LDH permaneceram dentro do valor de referência mencionado pela literatura, 78 a 132 U/L e 692 a 1445 U/L respectivamente (Kaneko *et al.*, 2008).

Tabela 4: Atividades séricas médias (U/L) de AST e LDH de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.

		Período de transição							
		-3 sem	-2 sem	-1 sem	Parto	2 dias	5 dias	15 dias	21 dias
AST	Média	95,17 ^B	90,14 ^B	99,86 ^B	117,08 ^A	122,23 ^A	122,71 ^A	110,57 ^A	104,66 ^A
	SD	±25,35	±17,8	±19,58	±18,17	±24,12	±45,65	±16,73	±13,55
LDH	Média	900,02 ^B	931,51 ^B	1075,67 ^B	1345,24 ^A	1328,58 ^A	1325,27 ^A	1284,67 ^A	1259,83 ^A
	SD	±269,23	±225,84	±375,86	±364,73	±414,04	±426,34	±432,72	±331,11

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

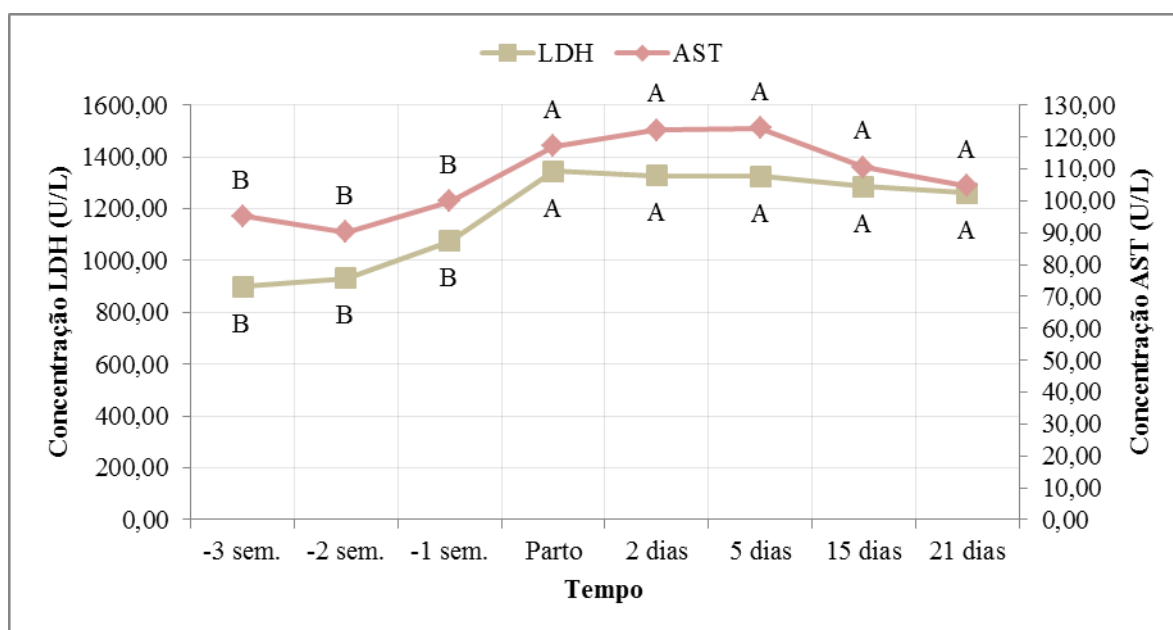


Figura 4: Comportamento das atividades séricas médias (U/L) de AST e LDH de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

O aumento da atividade das enzimas AST e LDH, porém dentro de valores fisiológicos, reflete a mudança no metabolismo hepático do pré-parto para o pós-parto, em função principalmente da produção de leite (Reynolds *et al.*, 2003). Apesar de a AST estar presente também em células musculares além do fígado, sua elevação no período de transição, pode indicar maior atividade hepática (Thrall *et al.*, 2012).

Resultados semelhantes foram encontrados por Aeberhard *et al.* (2001) e Moreira (2013). De Paula *et al.* (2011) relataram maior atividade de LDH no dia do parto, com média de $724,92 \pm 249,63$ U/L e posterior diminuição no pós-parto, trabalhando com animais mestiços.

Com relação à enzima AST, Aquino Neto (2012) encontrou aumento de sua atividade 24 horas após o parto, concomitante com a elevação dos níveis de BHBA e descreveu este fato como indicativo de incremento no metabolismo hepático. Fagliari *et al.* (1998) também encontraram aumento da atividade de AST após o parto e atribui ao esforço muscular ocorrido durante o processo de parto.

Além do aumento do metabolismo hepático de ácidos graxos não esterificados, vacas de aptidão leiteira aumentam a produção hepática de glicose, paralelamente ao aumento da produção de leite (Bell, 1995),

a partir de dietas com maiores quantidades de concentrado e, conseqüentemente maior produção rumenal de AGVs e aumento do metabolismo hepático de ácido propiônico.

Aeberhard *et al.* (2001) relatou aumento de AST ao parto até a segunda semana pós-parto, com posterior tendência a diminuir. Resultados similares foram observados por Moreira (2013).

Entretanto, De Paula *et al.* (2010) não encontrou diferença na atividade enzimática de AST durante o peri-parto. Birgel Junior *et al.* (2003), trabalhando com animais da raça Holandesa no Estado de São Paulo, também não encontrou alterações significativas na atividade de AST.

3.3.4. Minerais

Os minerais foram analisados através de sua média em relação ao tempo pré e pós-parto e pela proporção, em cada momento, de amostras com valores abaixo ou acima dos limites de referência. Esta última análise é de extrema importância, pois além de informar sobre a homeostase dos minerais, fornece o diagnóstico da ocorrência de distúrbios como hipocalcemia, hipomagnesemia e hiper ou hipofosfatemia (Oetzel, 2004; Duffield *et al.*, 2009; Goff, 2009b).

Tabela 5: Concentrações séricas médias (mg/dl) de cálcio total (Ca), fósforo (P), e magnésio (Mg) de vacas multíparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.

		Período de transição							
		-3 sem	-2 sem	-1 sem	Parto	2 dias	5 dias	15 dias	21 dias
Ca	Média	10,31 ^A	10,6 ^A	10,82 ^A	10,01 ^A	10,52 ^A	11,22 ^A	10,49 ^A	10,62 ^A
	SD	±1,19	±1,31	±1,21	±1,12	±1,81	±1,35	±1,42	±1,26
P	Média	8,29 ^A	7,92 ^A	8,39 ^A	5,72 ^A	7,3 ^A	8,49 ^A	7,82 ^A	7,81 ^A
	SD	±1,94	±1,73	±4,07	±3,34	±2,2	±3,15	±1,68	±3,35
Mg	Média	2,72 ^A	2,86 ^A	2,68 ^A	3,09 ^A	2,61 ^A	2,38 ^A	2,4 ^A	2,64 ^A
	SD	±0,72	±0,94	±0,81	±0,57	±0,33	±0,42	±0,36	±1,28

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

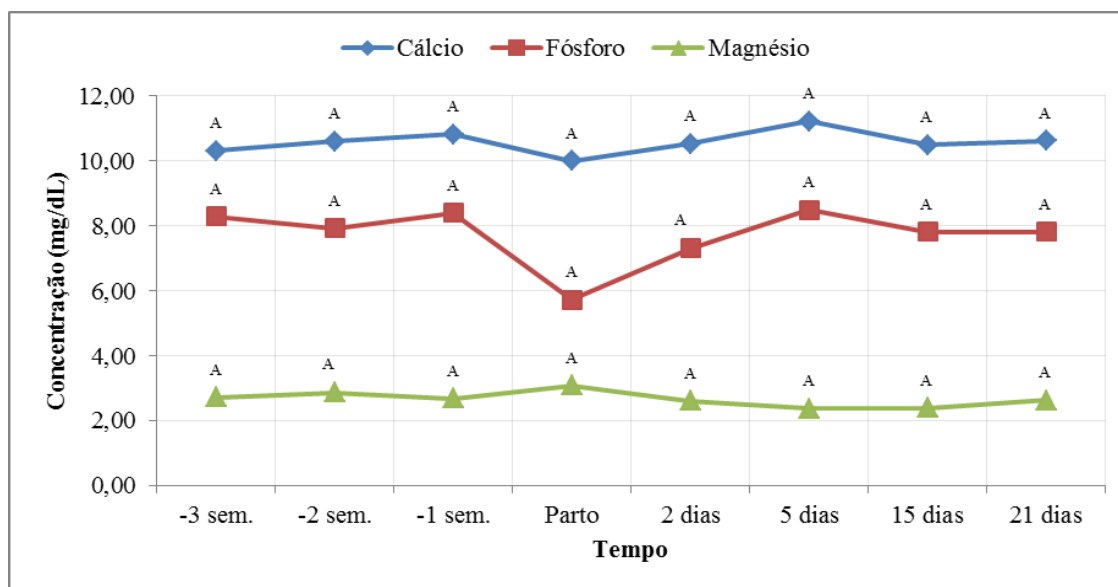


Figura 5: Comportamento das concentrações séricas médias (mg/dL) de cálcio total, fósforo e magnésio de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Tabela 6: Comportamento das concentrações séricas médias (mg/dl) de cálcio total e frequência de hipocalcemia (Ca < 8,5 mg/dL) de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação.

		Período de transição							
		-3 sem	-2 sem	-1 sem	Parto	2 dias	5 dias	15 dias	21 dias
Ca	Média	10,31 ^A	10,6 ^A	10,82 ^A	10,01 ^A	10,52 ^A	11,22 ^A	10,49 ^A	10,62 ^A
	SD	±1,19	±1,31	±1,21	±1,12	±1,81	±1,35	±1,42	±1,26
Frequência de hipocalcemia		0	0	0	0	8,3%	8,3%	16,7%	0

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

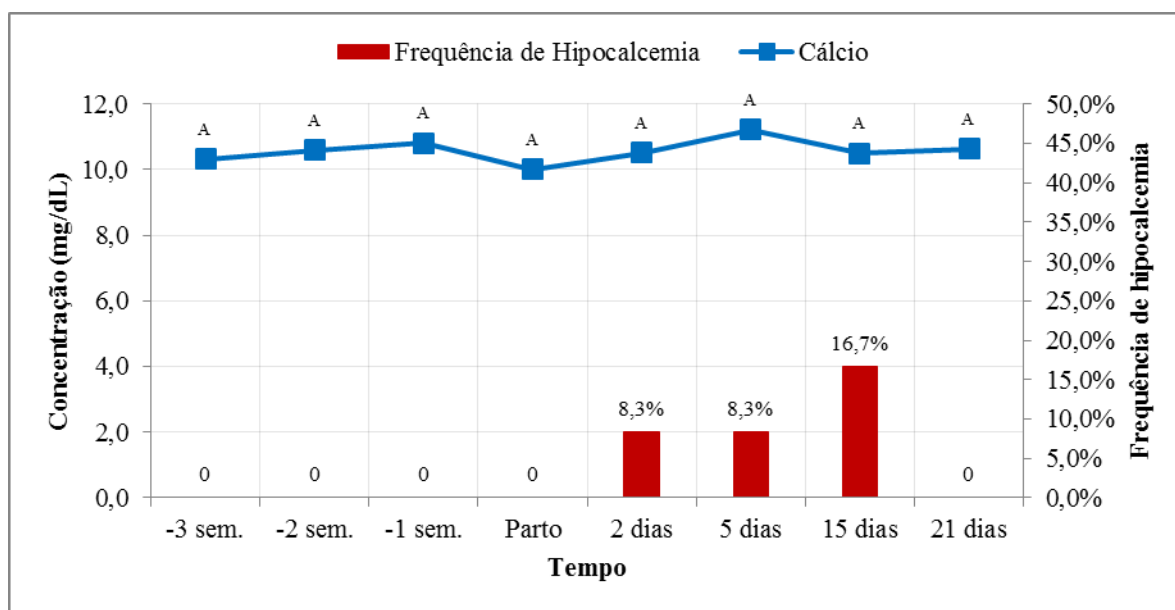


Figura 6: Comportamento da concentração sérica média (mg/dl) de cálcio e frequência de hipocalcemia (Ca < 8,5 mg/dL) de vacas pluríparas da raça holandesa na terceira (-3 sem), segunda (-2 sem) e primeira (-1 sem) semanas pré-parto, parto e nos dias 2, 5, 15 e 21 pós-parto em sistema intensivo de criação. Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Não houve diferença ($P>0,05$) nas concentrações séricas médias de cálcio, fósforo e magnésio entre os momentos de colheita.

As concentrações médias de cálcio mantiveram estáveis e permaneceram em torno de 10,6 mg/dL, próximas ao limite superior do valor de referência de 8,5 a 10 mg/dL (Goff, 2004). A menor média de concentração sérica de cálcio foi 10,01 mg/dL no dia do parto. Dois animais contribuíram para ocorrência de hipocalcemia subclínica nos dias dois, cinco e quinze após o parto, com 8,3%, 8,3% e 16,7% respectivamente. Apenas um animal manteve a hipocalcemia durante os três momentos acima, com respectivos valores de 7,16 mg/dL, 8,20 mg/dL e 8,35 mg/dL. Outro animal teve hipocalcemia somente no dia quinze após o parto e com valor de 8,29 mg/dL.

Vários trabalhos verificaram a redução da calcemia com aproximação do parto e o menor valor no dia do parto (Goff e Horst, 1997; Nutritional ..., 2001; Souza Junior, 2008; Buture, 2009; Moreira, 2013), entretanto neste experimento não foi observado e as concentrações médias de cálcio ao parto mantiveram-se estáveis e acima do limite superior do valor de referência de 8,5 a 10 mg/dL (Goff, 2004).

Os níveis séricos médios de cálcio se mantiveram durante todo o período de transição acima daqueles considerados como ponto de corte para hipocalcemia subclínica (8,5 mg/dl) por Goff (2000). No entanto, a literatura descreve que a média geral de animais hipocalcêmicos no dia do parto está próxima dos 50% (Reinhardt *et al.*, 1988; Goff e Horst, 1997; Goff, 2008, 2009; Souza Junior *et al.*, 2011; Moreira, 2013). Por outro lado, Frigotto (2010) trabalhou com vacas holandesas confinadas (free-stall) e encontrou menores porcentagens de animais hipocalcêmicos nos dias 1 e 2 pós-parto (11,3 e 4,7% respectivamente), porém utilizou um ponto de corte inferior (7,5 mg/dl).

Segundo Reinhardt *et al.* (1988) vários são os fatores que podem interferir na homeostase do cálcio, como a composição da dieta, idade, sexo e raça. No presente estudo, os resultados demonstram uma manutenção dos níveis séricos de cálcio acima do limite fisiológico inferior, e menor ocorrência de hipocalcemia subclínica, possivelmente associado com a dieta e o conforto dos animais durante o período de transição. No entanto, foram encontrados 16,7% (dois animais em 12) de frequência de hipocalcemia no dia 15 pós-parto, sinalizando um estado de alerta para este período.

Observando as concentrações de fósforo na tabela 3, não há diferença estatística entre os momentos ($p>0,05$) e as concentrações séricas médias estão no limite superior do valor de referencia de 4 a 8 mg/dL (Goff, 2000). Nenhum animal apresentou hipofosfatemia durante o período de acompanhamento.

No presente estudo não houve associação entre os animais que apresentaram hipocalcemia e redução na concentração de fósforo. Alguns autores relatam a redução na concentração de fósforo no dia do parto e durante os episódios de hipocalcemia (Reinhardt *et al.*, 1988; Goff e Horst, 1998; Nutritional..., 2001). Devido à ação do paratormônio, responsável em promover a perda renal e salivar de fósforo, acarretando a diminuição da sua concentração sérica (Goff, 2000).

Similar ao observado neste estudo, Souza Junior *et al.* (2011) não observaram diferença nos níveis de fósforo durante o 14^o dia antes do parto até o 21^o dia após o parto. Assim como, De Paula *et al.* (2011) também não encontraram variação na concentração de fósforo entre três semanas pré-parto até três semanas pós-parto. E uma prevalência muito baixa de hipofosfatemia foi relatada por Moreira (2013).

Os valores de magnésio sérico encontrados neste estudo também não diferiram

estatisticamente entre os momentos ($p>0,05$). Todas as concentrações séricas médias permaneceram dentro do valor de referencia de 1,7 a 3,3 mg/dL (Reinhardt *et al.*, 1988). A maior concentração média sérica foi 3,09 mg/dL no dia do parto. Apenas um animal apresentou hipomagneseemia no dia cinco após o parto (1,67 mg/dL), entretanto este não apresentou hipocalcemia.

A manutenção dos níveis adequados de magnésio contribui para os resultados em relação à calcemia, uma vez que a reabsorção óssea de cálcio é dependente do magnésio. O paratormônio ativa a adenilciclase ao se ligar ao seu receptor nos ossos e no rim, ou ativa a fosfolipase C quando se liga a receptores em outros tecidos. A adenilciclase e a fosfolipase C possuem um sítio de ligação com o íon Mg^{2+} , o qual deve estar ocupado para que haja total resposta ao hormônio (Goff, 2004, 2008).

Trabalhos realizados no Brasil por Souza Júnior (2008); Buture (2009) e Moreira (2013) relataram não haver variação no magnésio antes do parto, parto e nos dias após o parto, embora os níveis descritos sejam inferiores ao deste estudo e próximos ao limiar de 1,7 mg/dL.

Alguns autores observaram elevação nas concentrações de magnésio no dia do parto

(Marguard *et al.*, 1976; Wilson *et al.*, 1977), o que pode ser justificado pela menor concentração de cálcio ao parto e estímulo do paratormônio. Este aumenta o limiar renal para excreção de magnésio e estimula reabsorção óssea, promovendo então o aumento da concentração sérica de magnésio.

A explicação que faz o magnésio aumentar ou diminuir no dia do parto é o equilíbrio entre a utilização deste mineral para produção de colostro e a reposição deste através da dieta, paralelamente com a absorção óssea e a diminuição da excreção renal pela ação do paratormônio.

O magnésio não possui uma regulação própria, portanto sua variação ou o equilíbrio entre os resultados dos trabalhos ocorrem principalmente pela dieta fornecida aos animais (Nutritional..., 2001; Goff, 2004).

Considerando os resultados dos minerais (cálcio, fosforo e magnésio) do presente estudo, observa-se que seus níveis estão adequados e os animais estão adaptando-se aos desafios do período de transição.

3.3.5. Resultado do perfil metabólico em análise multivariada.

A análise multivariada consiste na representação gráfica espacial das variáveis e permite avaliar a relação de suas forças. Observando a figura 7 verifica-se que os metabólitos albumina (Albu) e proteína total (PT) estão altamente associados e reagem de forma antagônica fortemente ao BHBA e moderadamente ao LDH. Enquanto o BHBA e LDH apresentam associação positiva moderada.

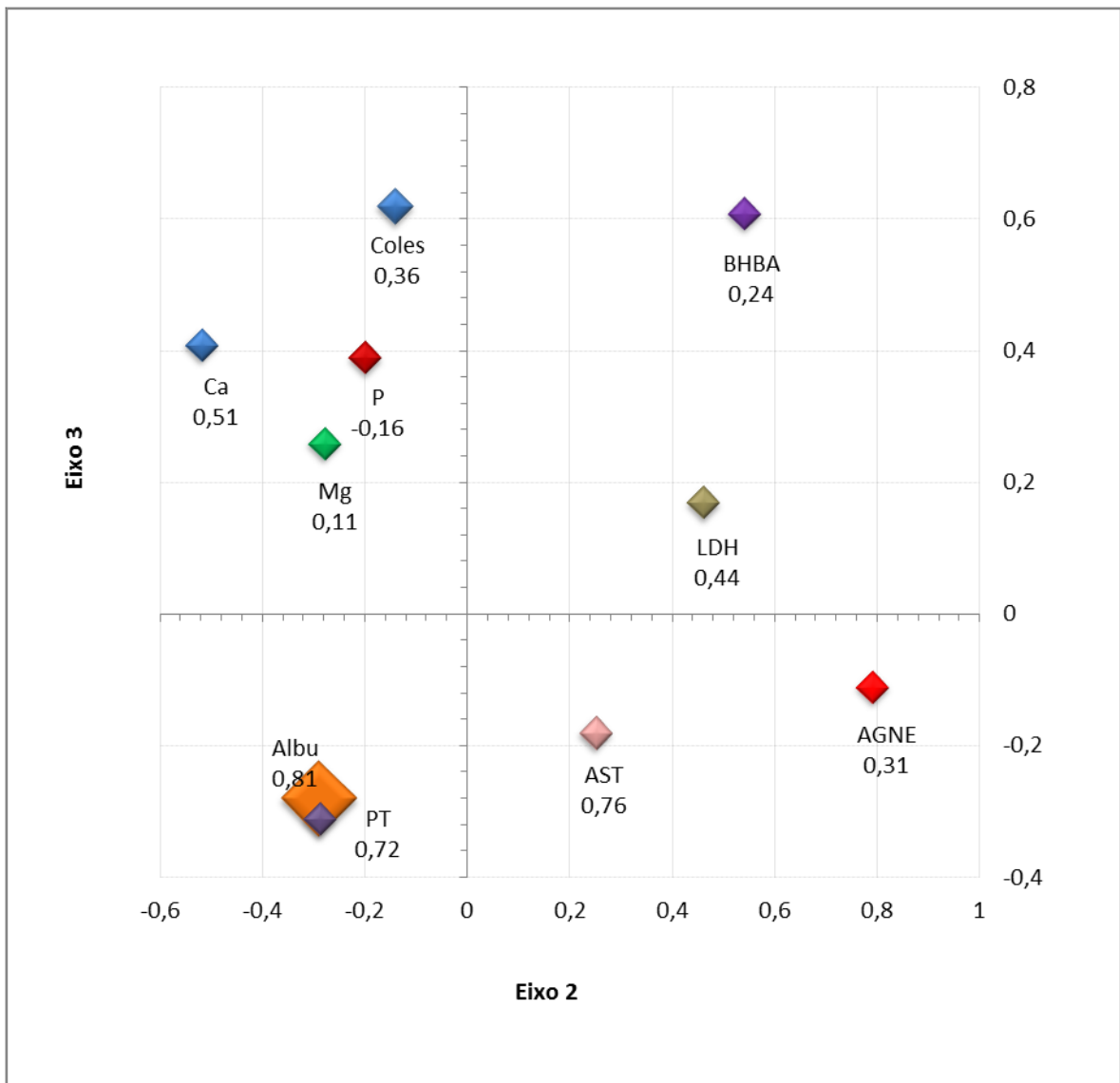


Figura 7: Representação gráfica das variáveis (AGNE, BHBA, colesterol, proteína total, albumina, AST, LDH, cálcio, fósforo e magnésio) no sistema tridimensional obtida na análise multivariada em componentes principais, segundo os eixos 2 e 3. As coordenadas do eixo 1 estão registradas abaixo da sigla das variáveis no gráfico. Inércia do sistema: 57%.

O colesterol (Coles), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) experimentam uma associação positiva moderada. Nesta ordem, eles apresentam antagonismo decrescente

ao AST e mais intensamente ao AGNE. AST e AGNE são moderadamente associados, pois estão em um mesmo quadrante.

O fósforo (P) é antagônico à albumina (Albu), LDH, BHBA, AST e AGNE, sendo o antagonismo crescente nesta ordem.

A inércia de sistema ideal seria acima de 70%, no caso foram 57%, entretanto representa um resultado considerável.

Albumina e proteína total são sintetizadas pelo fígado e estão relacionadas com o metabolismo hepático (Kaneko *et al.*, 2008). Cerca de 50 a 65% da proteína total circulante são representadas pela albumina, sendo um importante componente desta (Kaneko *et al.*, 2008; Smith, 2009). Este fato explica a alta associação e relação encontrada no presente estudo.

Ainda relacionado com o metabolismo hepático, porém antagonicamente à albumina e a proteína total, estão BHBA e LDH. Esta oposição provavelmente relaciona-se com a capacidade adaptativa do fígado conforme as necessidades do organismo. Isto é, o órgão prioriza sua função metabólica de acordo com a demanda. A mobilização de reservas energéticas e síntese de BHBA com participação da enzima LDH é antagônica a síntese proteica para produção de leite.

A albumina está diretamente relacionada com a proteína total, o que significa que não ocorreu variação de globulina neste experimento. A albumina é uma proteína de

fase aguda negativa, indicando que estes animais não apresentaram um processo inflamatório (mastite, metrite, laminite). A globulina está estável e também sinaliza ausência de processos inflamatórios agudos ou crônicos.

A associação positiva do cálcio e magnésio se deve ao fato do magnésio ser cofator de ligação entre o paratormônio e o receptor. Sendo necessária sua presença para ocorrer à resposta do PTH e manter a homeostase de cálcio (Goff, 2004, 2008). O magnésio não possui um mecanismo homeostático de controle e seus níveis sanguíneos são reflexo direto da alimentação (Nutritional..., 2001; Goff, 2004). Assim sendo, a associação com colesterol pode estar relacionada ao consumo, a ingestão de matéria seca (Grummer, 1995; Kaneko, *et al.*, 2008). Cálcio, magnésio e colesterol estão relacionados com o consumo de alimentos.

De maneira oposta a este quadrante e antagônicos estão AGNE e AST. Uma maior mobilização de ácidos graxos não esterificados ocorre com a diminuição de ingestão de matéria seca. Enquanto a atividade enzimática de AST está envolvida na mobilização tecidual, demonstrando associação com o AGNE.

O AGNE aumenta quando há diminuição de consumo de alimentos, intensificando o

metabolismo hepático e determinando uma maior atividade de AST.

3.4 Conclusão

A avaliação do perfil metabólico demonstrou ser uma importante ferramenta de monitoramento para vacas de aptidão leiteira durante o período de transição para acompanhamento e tomada de decisões.

As alterações no perfil metabólico de vacas no período de transição entre o pré-parto e o pós-parto são de caráter energético.

As medidas de manejo, conforto e alimentação empregadas na propriedade estudada, garantiram a manutenção da homeostase mineral no período de transição das vacas, bem como a ocorrência de um balanço energético negativo de baixa intensidade.

As vacas do sistema de produção avaliado possuem pequenos riscos de desenvolverem enfermidades no pós-parto relacionadas ao período de transição.

4. EXPERIMENTO 2

AVALIAÇÃO DE SANGUE DE DIFERENTES LOCAIS DE COLHEITA E MÉTODOS DE ANÁLISE PARA MENSURAÇÃO DE BETA HIDROXIBUTIRATO EM VACAS DE APTIDÃO LEITEIRA.

4.1. Introdução

O período de transição é um momento de grande desafio para vacas de aptidão leiteira (Grummer, 1995; Drackley, 1999; Burhans *et al.*, 2003; Drackley *et al.*, 2005). A maioria dos problemas metabólicos ocorre nesta fase do ciclo produtivo e podem prejudicar toda a expectativa de produção

da vaca durante a lactação (Grummer, 1995; Dann *et al.*, 1999; Drackley, 1999).

Uma dessas enfermidades é a cetose, doença metabólica caracterizada pelo aumento na concentração de corpos cetônicos circulantes (Baird, 1982; Anderson, 1988; Drackley, 1999; Duffield, 2000; Herdt, 2000; Drackley *et al.*, 2005;

Gonzales e Silva, 2006; Duffield *et al.*, 2009; Roche *et al.*, 2009). Esta enfermidade desperta considerável interesse econômico mundial devido sua alta prevalência e impacto na produtividade dos rebanhos. Os animais afetados apresentam redução na produção de leite, anorexia e perda de peso, além de predisposição à ocorrência de outras enfermidades do período de transição (deslocamento de abomaso, mastite, metrite e endometrite) (Duffield *et al.*, 2009; Duffield e LeBlanc, 2009; LeBlanc, 2010).

O excesso de corpos cetônicos nos fluidos orgânicos (leite, soro e urina) sem a apresentação de sinais clínicos é classificado como cetose subclínica (Dohoo e Martin, 1984; Anderson, 1988; Duffield, 2000; Gonzáles, 2000), ocorrendo principalmente nas duas primeiras semanas pós-parto (Duffield *et al.*, 1997). Os valores de corpos cetônicos superiores à concentração de 1,2 mmol/L no sangue são considerados positivos para o diagnóstico de cetose subclínica (Duffield, 2000), tendo sido encontrado uma prevalência de 6,9% a 34% (Dohoo e Martin, 1984; Duffield *et al.*, 1997).

A cetose clínica caracterizada por um aumento de corpos cetônicos com rápida perda de escore corporal, diminuição da produção leite, anorexia, prostração e odor

de cetona no ar expirado (Duffield *et al.*, 1997; Ingvarsen, 2006; Radostits *et al.*, 2007), possui uma prevalência menor, atingido de 2 a 15% dos rebanhos (Duffield, 2000). No entanto a cetose subclínica pode atingir até 80% em alguns rebanhos (Duffield, 2000), tornando extremamente importante o monitoramento do balanço energético negativo nos rebanho leiteiros como forma de controle da enfermidades no pós-parto.

A mensuração de BHBA sanguíneo é um método adequado para o monitoramento de cetose no rebanho devido sua estabilidade e predominância entre os corpos cetônicos circulantes (Dohoo e Martin, 1984; Duffield, 2000; Herdt, 2000; Oetzel, 2004; LeBlanc *et al.*, 2006). No entanto, há exigência de estrutura laboratorial, cuidados com o manuseio de amostra e demanda logística e tempo para emissão de resultado.

Atualmente, aparelhos portáteis de fácil manuseio e praticidade estão disponíveis na medicina humana para determinação de betahidroxibutirato (Guerci *et al.*, 2005). Os testes em humanos demonstraram bons resultados de concordância entre o aparelho Optium Xceed^{®7} e os métodos laboratoriais (Byrne et al, 2000; Ronald, 2008).

⁷ Optium Xceed[®] - Aparelho portátil eletroquímico produzido pela Abbott

Trabalhos em bovinos encontraram coeficientes de correlação de 0,95 (Iwersen *et al.*, 2009), 0,97 (Voyvoda e Erdogan, 2010) e 0,93 (Oetzel, 2010) entre BHBA sérico determinado pela química úmida em laboratórios e o BHBA sanguíneo determinado pelo aparelho portátil. Utilizando ainda um BHBA sérico de 1.3 ou 1.4 mmol/L como ponto de corte para cetose subclínica, as sensibilidades foram 0,96, 0,90 e 0,99 e as especificidades foram 0,97, 0,98 e 0,98 nos três estudos (Iwersen *et al.*, 2009; Oetzel, 2010; Voyvoda e Erdogan, 2010).

O diagnóstico e tratamento precoce de cetose subclínica pode diminuir o impacto desta enfermidade no sistema de produção. Além disso, os resultados dos testes podem ser utilizados numa base de rebanho para determinar o nível de cetose subclínica e indicar a necessidade de novas investigações e gerenciamento de melhorias (Anderson, 1988; Duffield, 2000). A detecção precoce, utilizando um teste rápido ao lado da vaca, de BHBA e tratamento imediato pode reduzir significativamente às perdas associadas a

cetose (McArt *et al.*, 2011; McArt *et al.*, 2012).

Os objetivos deste experimento foram:

- Avaliar o sangue colhido em diferentes locais para a mensuração de beta hidroxibutirato de vacas de aptidão leiteira utilizando o aparelho portátil Optium Xceed®;
- Comparar as mensurações sanguíneas de beta hidroxibutirato, obtidas pelo aparelho eletroquímico portátil Optium Xceed®, com o método laboratorial espectrofotometria de química úmida, analisador bioquímico automático.

4.2. Material e métodos

4.2.1. Local e período

O experimento foi realizado em uma fazenda comercial de produção leiteira, localizada no município de Inhaúma, Minas Gerais, a 86 km de Belo Horizonte. A propriedade possui área de 1.100 hectares com 1.170 vacas em lactação com média de produção de leite de 27 kg/dia, 8.235 kg na lactação (305 dias) e produção total de 33.000 litros de leite / dia. O sistema de produção é intensivo, com os animais em confinamento do tipo “free-stall”. O

levantamento dos dados foi realizado entre os meses de outubro a dezembro de 2012.

4.2.2. Animais

Foram utilizadas seis vacas da raça Holandesa que estavam entre a segunda e a quarta ordem de lactação. Estes animais foram avaliados no período de dois a 21 dias após o parto. Todas as condições e rotinas de manejo adotadas pela propriedade foram mantidas durante a realização do experimento.

4.2.3. Ambiente e manejo

Os animais eram manejados em galpão free-stall, também conhecido como galpão de “checagem do pós-parto”, onde permaneciam entre 10 – 20 dias e eram inspecionados diariamente por um funcionário específico. Neste local, primíparas e multíparas eram manejadas separadas. A dieta era fornecida duas vezes ao dia nos horários de 09:00 e 16:00 horas, distribuída em pista de alimentação com área de 70 cm por animal. Eram realizadas três ordenhas diárias, com intervalos de 8 horas.

4.2.4. Coleta de material

As colheitas de sangue foram realizadas nos dias dois, cinco, dez, 15 e 21 pós-parto, no horário de 13:00 horas, durante a saída dos animais da ordenha, cerca de 4 - 5 horas após alimentação. Posterior a antissepsia local, com álcool iodado a 2%, amostras de 1 ml de sangue eram puncionadas, em seringa estéril de 3 ml, de veias jugular, coccígea e mamária. E imediatamente após, uma gota de sangue era instilada na fita reagente para BHBA para posterior leitura. Na jugular eram colhidos 5 ml de sangue em tubos vacutainer siliconizados, com gel ativador de coágulo, devidamente identificados com o número do animal e a data, e acondicionados em uma caixa de isopor com gelo reciclável para transporte e posterior análise bioquímica. Foi realizada também a colheita de amostra de sangue na ponta da cauda do animal através de lancetas de 28 mm. No total foram cinco coletas em cinco tempos por animal, realizados em quatro pontos distintos de punção.

4.2.5. Análises com aparelho portátil

Imediatamente após a colheita de amostra de sangue, o volume de uma gota de sangue era colocado na tira reagente teste para

beta-cetona que já estava devidamente inserida no aparelho portátil Optium Xceed®. A reação do BHBA presente no sangue com a tira de teste produz uma corrente elétrica que é medida pelo aparelho e exibida no monitor em exatamente 10 segundos. O resultado era imediatamente registrado em planilha. Conforme recomendação do fabricante. O equipamento é padronizado para determinação da mensuração de BHBA tanto em sangue venoso quanto de capilar, e expressa os valores analíticos de 0 a 8,0 mmol/L.

4.2.6. Análises bioquímicas

No Laboratório de Clínica de Ruminantes da Escola de Veterinária da UFMG, as amostras eram centrifugadas pelo tempo de 10 minutos a 3.800 RPM. Na sequência o soro era fracionado e armazenado em quatro eppendorfs de 0,5 ml e congelado a -20° C, também todos devidamente identificados com número do animal e data de coleta.

As análises do soro foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG. O analisador bioquímico, aparelho automático, COBAS

Mira Plus®⁸ e kits comerciais RANDOX®⁹ foram utilizados para quantificar a concentração de BHBA.

4.2.7. Análise estatística

A variável estudada foi à concentração de BHBA em relação aos quatro métodos de coleta (veia jugular, veia coccígea, veia mamária e ponta da cauda), aos cinco tempos (D2, D5, D10, D15 e D21) e aos dois métodos de análise (analisador bioquímico automático e aparelho portátil). Para avaliação dos métodos de colheita e dos métodos de análise foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado no arranjo em parcelas subdivididas. Parcela esta composta pelos métodos de colheita ou pelo método de análise, e na subparcela os tempos (D2, D5, D10, D15 e D21) de avaliação, conforme modelo abaixo:

$$Y_{ijl} = \mu + M_i + e_{ij} + D_l + (MD)_{il} + \delta_{ijl}$$

⁸ COBAS Mira Plus® - Aparelho de espectrofotometria automático produzido pela ROCHE - 0800 772 0295, <http://www.roche.com.br>

⁹ RANDOX® - fabricado por RANDOX – Reino Unido. Importado e distribuído por RANDOX Brasil Ltda. Rua Fernandes Moreira 411 / 415, São Paulo – SP. CEP 04716-000. Tel.: 01151812029.

Y_{ijl} = efeito da observação do método de coleta ou de análise i , dos dias de avaliação l na repetição j ;

μ - efeito médio geral;

M_i – efeito do método de coleta ou de análise i ; sendo $i = L^1, C^2$;

e_{il} – erro aleatório atribuído à parcela (método de coleta ou de análise) i , da repetição j ;

D_l – efeito dos dias de avaliação j ; sendo $j = 2, 5, 10, 15$ e 21 .

$(MD)_{il}$ – efeito da interação do método de coleta ou de análise * dias de avaliação;

δ_{ijl} – efeito do erro aleatório atribuído à sub-parcela do método coleta ou de análise i , nos dias de avaliação l da repetição j .

Inicialmente, utilizou-se o teste de Lilliefors para verificar a normalidade das variáveis. Observado uma distribuição anormal, a variável foi submetida à transformação para arcoseno (ARSEN (raiz(BHBA))). As

médias entre os diferentes locais de colheita e o método de análise foram comparadas pelo teste de SNK e F, respectivamente, com 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os procedimentos do SAEG 9.1 (Sistema..., 2007).

4.3. Resultados e discussão

4.3.1. Locais de colheita de sangue

As concentrações médias de BHBA não apresentaram diferença entre os tempos de colheita dos quatro locais avaliados ($p > 0,05$). Porém, houve diferença das concentrações de BHBA colhidas de veia mamária em relação às veias coccígea e jugular e ponta da cauda ($p < 0,05$). As concentrações médias de BHBA colhidas nas veias jugular e coccígea e na ponta da cauda não diferiram entre si ($p > 0,05$), conforme observado na tabela 7 e figura 8.

Tabela 7: Médias das concentrações (mmol/L) de BHBA em aparelho portátil em relação ao local de colheita em vacas de aptidão leiteira no pós-parto.

	Dias pós-parto				
	2 dias	5 dias	10 dias	15 dias	21 dias
Ponta da cauda	0,8 ± 0,2 ^{Aa}	1,3 ± 0,7 ^{Aa}	0,8 ± 0,2 ^{Aa}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}
Veia coccígea	0,7 ± 0,2 ^{Aa}	1,1 ± 0,8 ^{Aa}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}	0,6 ± 0,2 ^{Aa}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}
Veia mamária	0,5 ± 0,2 ^{Ab}	0,9 ± 0,8 ^{Ab}	0,5 ± 0,2 ^{Ab}	0,5 ± 0,2 ^{Ab}	0,4 ± 0,2 ^{Ab}
Veia jugular	0,7 ± 0,2 ^{Aa}	1,1 ± 0,8 ^{Aa}	0,7 ± 0,1 ^{Aa}	0,6 ± 0,2 ^{Aa}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas e letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste SNK ($p < 0,05$).

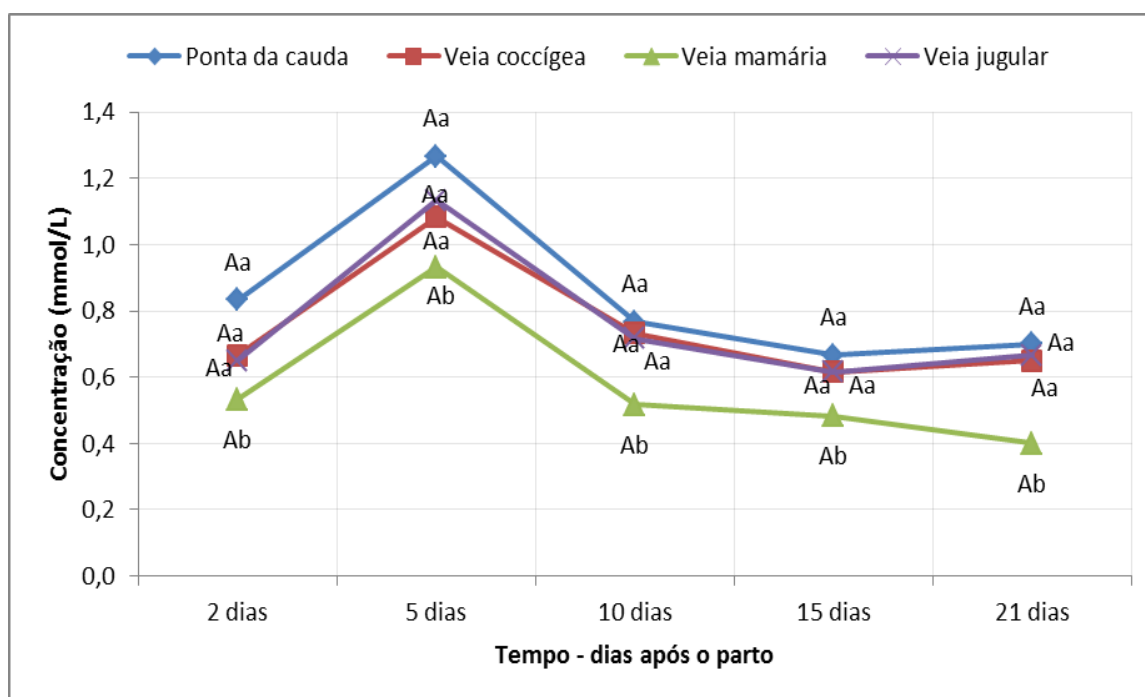


Figura 8: Comportamento das concentrações médias (mmol/L) de BHBA em aparelho portátil em relação ao local de colheita em vacas de aptidão leiteira no pós-parto. Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas e letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste SNK ($p < 0,05$).

As concentrações médias de BHBA colhidas na veia mamária foram menores em todos os tempos de colheita em relação aos demais locais ($p < 0,05$). Estes resultados demonstram a utilização do beta hidroxibutirato na glândula mamária. Segundo Bell (1995) e Drackley *et al.* (2001) os corpos cetônicos fornecem energia para a glândula mamária e são precursores de gordura do leite. Em função disso, a glândula mamária não seria o local mais indicado para colheita de sangue na avaliação de corpos cetônicos como monitoramento em rebanhos leiteiros.

Os resultados de análise de sangue colhido nas veias jugular e coccígea e ponta da cauda sugerem que quaisquer uns destes locais podem ser utilizados no monitoramento de níveis de BHBA em vacas de aptidão leiteira ($p > 0,05$).

A colheita de amostra de ponta cauda através de lancetas demonstrou ser muito prática, e rápida para a rotina no manejo dos animais. No entanto, devido à quantidade de sangue colhido ser pequena, pode ocorrer interferência no resultado com sujidade e umidade do local. O experimento

foi conduzido durante um período de condições favoráveis para manutenção de bom escore de limpeza corporal dos animais.

Fraga *et al.* (2011) utilizaram a colheita de sangue de veia jugular e capilar na face interna da orelha e concluíram que ambos os locais foram adequados na avaliação do níveis de BHBA, No entanto recomendam a avaliação em sangue venoso devido à facilidade de execução.

Considerando o resultado de método de colheita, a obtenção de amostras de veia coccígea apresentou maior facilidade de execução, de menor contenção dos animais, podendo ser o método de escolha para monitoramento.

4.3.2. Método de análise

As concentrações médias de BHBA, das amostras de sangue colhidas por venopunção de jugular, pelos métodos de eletroquímica com aparelho portátil Optium Xceed® e pela espectrofotometria com aparelho Cobas Mira Plus® não foram diferentes ($p > 0,05$) (Tabela 8 e Figura 9).

Tabela 8: Médias das concentrações (mmol/L) de BHBA em amostras de sangue de veia jugular de vacas leiteiras no pós-parto pelo método automático (L¹) e método com aparelho portátil (C²).

	Dias pós-parto				
	2 dias	5 dias	10 dias	15 dias	21 dias
Método L ¹	0,6 ± 0,3 ^{Aa}	0,7 ± 0,4 ^{Aa}	0,5 ± 0,1 ^{Aa}	0,6 ± 0,1 ^{Aa}	0,7 ± 0,1 ^{Aa}
Método C ²	0,7 ± 0,2 ^{Aa}	1,1 ± 0,8 ^{Aa}	0,7 ± 0,1 ^{Aa}	0,6 ± 0,2 ^{Aa}	0,7 ± 0,2 ^{Aa}

¹ Método automático, espectrofotometria com aparelho Cobas Mira Plus[®].

² Método com aparelho portátil, eletroquímica com aparelho portátil Optium Xceed[®].

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas e letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste SNK (p<0,05).

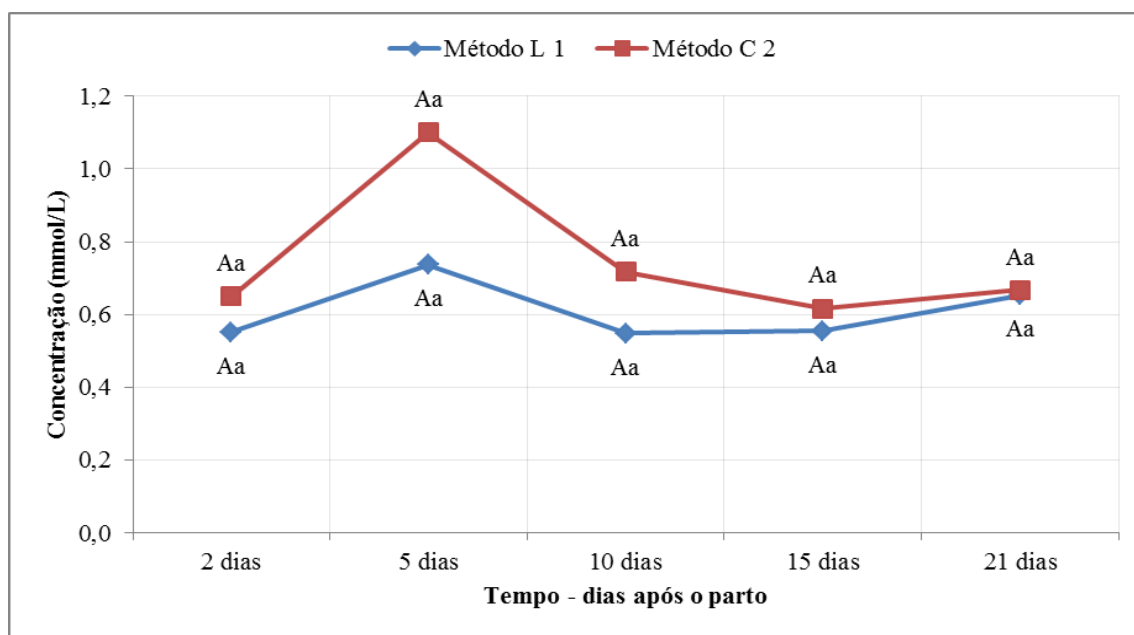


Figura 9: Comportamento das concentrações médias (mmol/L) de BHBA em amostras de sangue de veia jugular de vacas leiteiras no pós-parto pelo método laboratorial (L¹) e método a campo (C²).

¹ Método automático, espectrofotometria com aparelho Cobas Mira Plus[®].

² Método com aparelho portátil, eletroquímica com aparelho portátil Optium Xceed[®].

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas nas linhas e letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste SNK (p<0,05).

A concentração e comportamento de BHBA não diferiram entre os métodos de análise ($p>0,05$). Este resultado indica que a mensuração de beta hidroxibutirato pelo método de análise em aparelho portátil Optium Xceed[®] é eficiente na determinação de BHBA, podendo ser utilizado no monitoramento de rebanhos leiteiros.

Trabalhando com aparelho portátil Precision Xtra[®], Iwersen *et al.* (2009) e Oetzel (2010) compararam este método com o método de espectrofotometria de química úmida e encontraram $R^2 = 0,95$ e $0,86$ respectivamente.

Utilizando o mesmo aparelho do presente experimento (Optium Xceed[®]), Voyvoda e Erdogan (2010) encontraram um coeficiente de correlação de $0,97$. No Brasil, ainda com o mesmo aparelho, Fraga *et al.* (2011) relataram que este método é acurado e preciso para mensuração de BHBA no sangue de bovinos.

Estes trabalhos corroboram com o resultado encontrado neste experimento e validam a utilização do aparelho portátil como método de análise para mensuração de BHBA.

4.4. Conclusão

A colheita de sangue de veia jugular, veia coccígea e lanceta de ponta de cauda podem

ser utilizadas para mensuração de BHBA em aparelho portátil Optium Xceed[®].

O método com aparelho portátil Optium Xceed[®] é eficiente na determinação de BHBA, podendo ser utilizado no monitoramento de rebanhos leiteiros.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As medidas de manejo, conforto e alimentação empregadas na propriedade estão relacionadas com a manutenção da homeostase mineral, a intensidade do balanço energético negativo e o risco de enfermidades em vacas de aptidão leiteira durante no período de transição.

A avaliação do perfil metabólico pode ser uma importante estratégia de monitoramento de vacas de aptidão leiteira durante o período de transição.

O conhecimento do perfil metabólico de vacas de aptidão leiteira, durante o período de transição, é importante para tomadas de decisões referentes ao tratamento e mudanças no manejo como medidas profiláticas.

O aparelho portátil Optium Xceed[®] é uma ferramenta estratégica confiável, segura e prática para mensuração de beta hidroxibutirato em vacas de aptidão leiteira.

A colheita de sangue de veia coccígea para mensuração de BHBA é de fácil manejo e pode ser o local de escolha.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBERHARD, K.; BRUCKMAIER R. M.; BLUM J. W. Metabolic, enzymatic and endocrine status in high yielding dairy cows – Part 2. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, v.48, n.2, p.111–127, 2001.

ANDERSON, L. Subclinical ketosis in dairy cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.4, n.2, p.233–248, 1988.

AQUINO NETO, H. M. A. *Perfil hidroeletrólítico, ácido-base, metabólico e mineral de vacas leiteiras no pós-parto imediato e avaliação da fluido terapia oral*. 2012. 121f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

BAIRD, G. D. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. *J. Dairy Sci.*, v.65, n.1, p.1-10, 1982.

BAUMAN, D. E.; CURRIE W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.*, v.63, n.9, p.1514–1529, 1980.

BAUMAN, D. E.; GRINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.*, v.23, p.203-227, 2003.

BAUMGARD L. H.; ODENS L. J.; KAY J. K. *et al.* Does negative energy balance (NEBAL) limit milk synthesis in early lactation?. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION e MANAGEMENT CONFERENCE, 21, 2006, Tempe. *Proceedings...* Tempe, Arizona: The University of Arizona, 2006

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.*, v.73, n.9, p.2804–2819, 1995.

BELL, A. W.; BAUMAN D. E. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J. Mammar. Gland Biol. Neoplasia*, v.2, n.3, p.265–278, 1997.

BELL, A. W.; SLEPETIS, R.; EHRHARDT, R. A. Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, v.78, n.9, p.1954, 1995.

BERTICS, S. J.; GRUMMER, R.; CADORNINGA-VALINO; STODDARD, E. E. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration in early lactation. *J. Dairy Sci.*, v.75, n.7, p.1914-1922, 1992.

BERTONI, G.; TREVISI, E.; HAN, X. *et al.* Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.91, n.9, p.3300–3310, 2008.

- BIRGEL JUNIOR, E. H.; NEVES, F. S.; SALVATORE, L. C. A. *et al.* Avaliação da influência da gestação e do puerpério sobre a função hepática de bovinos da raça holandesa. *Ars Vet.*, v.19, n.2, p.172-178, 2003.
- BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Invited review: pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.87, n.10, p.3105-3124, 2004.
- BRADFORD, B. J.; FARNEY J. K. Influence of inflammation on metabolism in transition cows. In: SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 2010, Tempe, Arizona. *Proceedings...* Tempe, Arizona: The University of Arizona, 2010.p. 65–76.
- BURHANS, W. S.; BELL, A. W.; NADEAU, R. *et al.* Factors associated with transition cow ketosis incidence in selected New England herds. *J. Dairy Sci.*, v.86, suppl.1, p.247, 2003. (Abstracts).
- BUSATO A., FAISSLER, D., KUPFER U., *et al.* Body condition scores in dairy cows: associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. *J. Vet. Med. A*, v.49, n.9, p.455–460, 2002.
- BUTLER, W. R.; EVERETT, R. W.; COPPOCK, C. E. The relationship between energy balance, milk production and ovulation in post-partum Holstein cows. *J. Animal Sci*, v.53, n.3, p.742-748, 1981.
- BUTURE, I. O. *Avaliação metabólica de bovinos leiteiros no peri-parto como forma de diagnóstico precoce da hipocalcemia da vaca leiteira.* 2009. 173f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.
- BYRNE, H. A.; TIESZEN, K. L.; HOLLIS, S.; DORNAN, T. L.; NEW, J. P. Evaluation of an electrochemical sensor for measuring blood ketones. *Diabetes Care*, v.23, n.4, p.500–503, 2000.
- CAMERON, R. E. B.; DYK P. B.; HERDT T. H. *et al.* Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *J. Dairy Sci.*, v.81, n.1, p.132–139, 1998.
- CAVESTANY D.; BLANC J. E.; KULCSAR M. *et al.* Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: metabolic profiles. *J. Vet. Med. A*, v.52, n.1, p.1–7, 2005.
- CHAPINAL, N.; CARSON, M; DUFFIELD, T. F. *et al.* The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *J. Dairy Sci.*, v.94, n.10, p.4897–4903, 2011.
- CHEW, B. P.; ERB, R. E.; FESSLER, J. *et al.* Effects of ovariectomy during pregnancy and of prematurely induced parturition on progesterone, estrogens, and calving traits. *J. Dairy Sci.*, v.62, n.4, p.557-566, 1979.
- CHEW, B.P.; MURDOCK, F.R.; RILEY, R.E.; HILLERS, J.K. influence of prepartum dietary crude protein on growth hormone, insulin, reproduction, and lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.67, n.2, p.270-275, 1984.
- CHUNG, Y. M.; PICKETT, M. M.; CASSIDY, T. W.; VARGA, G. A. Effects

- of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. *J. Dairy Sci.*, v.91, n.7, p.2744-2758, 2008.
- CINCOVIC, R. M.; BRANISLAVA, B.; BILJANA, R. *et al.* Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and haematological parameters in dairy cows during periparturient period. *Acta Vet. Beograd*, v.62, n.4, p.429-444, 2012.
- CONTRERAS, P. A. Enfermedades metabólicas en vacas de alta producción. *Therios*, Supl. Esp., p.30, 1998.
- CONTRERAS, P. A. Indicadores do metabolismo protéico utilizado nos perfis metabólicos de rebanhos. In: BARCELLOS, J. O. J.; DIAZ GONZÁLES, F. H. D.; OSPINA PATINO, H.; RIBEIRO, L. A. O. (Eds.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, RS: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 108p.
- DANN, H. M.; VARGA, G. A.; PUTMAN, D. E. Improving energy supply to late gestation and early postpartum dairy cows. *J. Anim. Sci.*, v.82, n.8, p.1765-1778, 1999.
- DE PAULA, V. M.; FREITAS M. D.; MOREIRA T. F. *et al.* Perfil mineral e bioquímico de vacas leiteiras no período de transição em um sistema semi-intensivo em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO BUIATRIA, 9., 2011. Goiânia; *Vet. e Zootec*, v.18, n.4, supl.3, p.650-654, 2011.
- DeGARIS, P. J.; LEAN I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Vet. J.*, v.176, n.1, p.58-69, 2008.
- DOEPEL, L.; LAPIERRE H; KENNELLY J. J. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake, *J. Dairy Sci*, v.85, n.9, p.2315-34, 2002.
- DOHOO, I. R.; MARTIN S. W. Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. *Can. J. Comp. Med.*, v.48, n.1, p.1-5, 1984.
- DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.*, v.82, n.11, p.2259-2273, 1999.
- DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N. *et al.* Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.*, v.4, n.4, p.323-344, 2005.
- DRACKLEY, J. K.; OVERTON T. R.; DOUGLAS G. N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.*, v.84, Supl., p. E100-E112, 2001.
- DUFFIELD, T. F. Minimizing subclinical metabolic diseases in dairy cows. *WCDS Adv. Dairy Technol.*, v.18, p. 43-55, 2006.
- DUFFIELD, T. F.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Use of test day milk fat and milk protein to detect sub-clinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J.*, v.38, n.11, p.713-718, 1997.

- DUFFIELD, T. F.; LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. In: SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 27., 2009, Tempe, Arizona. *Proceedings...* Tempe, Arizona: University of Arizona/ Department of Animal Science, 2009. p.106-114.
- DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE K. D., MCBRIDE B. W. *et al.* Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.*, v.92, n.2, p.571-580, 2009.
- DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.16, n.2, p.231-253, 2000.
- DUFFIELD, T.; BAGG, R.; DESCOTEAUX, L. *et al.* Prepartum monensin for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.85, n.2, p.397-405, 2002.
- ENDECOTT, R. L.; BLACK, C. M.; NOTAH, K. A.; PETERSEN, M. K. Blood ketone levels of young postpartum range cows increased after supplementation ceased. *J. Dairy Sc.*, v.87, n.1, p.114, 2004.
- FAGLIARI, J. J.; SANTAN, A. E.; MARCHIO, W. *et al.* Constituintes sanguíneos de vacas das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bostaurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murah durante a gestação, no dia do parto e no puerpério. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.50, n.3, p. 273-282, 1998.
- FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e sua frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de vaca holandesas, antes e após o parto. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.52, n.2, p.11-116, 2000.
- FORBES, J. M. Integration of regulatory signals controlling forage intake in ruminants. *J. Anim. Sci.*, v.74, n.12, p.3029-3035, 1996.
- FRAGA, R. S. R.; RAIMONDO, R. F. S.; YASUOKA, M. M.; HAGIWARA, M. K. Uso de sensor portátil para a mensuração de glicose e beta hidroxibutirato no sangue de bovinos leiteiros. *Vet. Zootec.*, v.18, n.4, supl.3, p389 - 393, 2011.
- FRIGOTTO, T.A. *Monitoramento clínico e produtivo de vacas leiteiras no período de transição*. 2010. 61f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- GARCIA, A. M. B. *Avaliação metabólica de vacas leiteiras submetidas a diferentes estratégias de prevenção do balanço energético negativo no pós-parto*. 2010. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.
- GAY, J. M. Determining cause and effect in herds. *Vet. Clin. North Am. Food Anim.*, v.22, n.1, p.125-147, 2006.
- GOFF, J. P. Como controlar a febre do leite e outras desordens metabólicas relacionadas à macro minerais em vacas de leite. In: CURSO NOVOS ENFOQUES NA

PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 13., 2009, Uberlândia. *Anais...* Uberlândia: [s.n.], 2009. p.267-284.

GOFF, J. P. Macromineral disorders of the transition cow. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.20, n.3, p.471-494, 2004.

GOFF, J. P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.126, n.3-4, p.237-257, 2006a.

GOFF, J. P. Mineral disorders of the transition period: origin and control. In: WORLD BUIATRICS CONGRESS, 2006b, Nice. *Proceedings...* Nice: [s.n.], 2006b. p. 1-9.

GOFF, J. P. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet. Clin. North Am. Food Anim Pract.* v.16, n.2, p.319-337, 2000.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet. J.*, v.176, n.1, p.50-57, 2008.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Effects of the Addition of Potassium or Sodium, but Not Calcium, to Prepartum Rations on Milk Fever in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, v.80, n.1, p.176-186, 1997a.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.*, v.80, n.7, p. 260-1267, 1997b.

GOFF, J. P.; KIMURA K. Interação entre doenças metabólicas e o sistema imune. In CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 13., 2009, Uberlândia. *Anais...* Uberlândia: [s.n.], 2009. p.251-260.

GOFF, J. P; HORST, R. L. Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. *J. Dairy Sci.*, v.81, n.11, p.2874-2880, 1998.

GONÇALVES, D.; KOZICKI, L. E. Perfis bioquímicos e imunológicos no período peripartal de vacas leiteiras com e sem retenção de placenta. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.34, n.6, p.364-370, 1997.

GONZÁLES, F. H. D; SILVA, S. C. Bioquímica clínica de lipídeos. In: INTRODUÇÃO à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. Cap. 4, p.121 – 151.

GONZÁLES F.H.D.; CONCEIÇÃO T.R.; SIQUEIRA A.J.S., LA ROSA V.L. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. *Hora Vet.*, v.20, p.59-62, 2000.

GONZÁLES, F. H. D. Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais. In: GONZÁLES, F, H. D.; BARCELOS, J. O.; OSPINA, H. *et al.* (Eds.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.* Porto Alegre. Gráfica da UFRGS, 2000. 106p.

GONZÁLES, F.H.D.; ROCHA, J.A. Metabolic profile variations and

reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.26, n.1, p.52-64, 1998.

GRANT, R. J.; ALBRIGHT, J. L. ; Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, v.73, n.9, p.2791 – 2803, 1995.

GRUM, D. E.; DRACKLEY J. K.; YOUNKER R. S. *et al.* Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.79, n.10, p.1850-1864, 1996.

GRUM, D. E.; DRACKLEY, J. K.; CLARK J. H. Fatty acid metabolism in liver of dairy cows fed supplemental fat and nicotinic acid during an entire lactation. *J. Dairy Sci.*, v.85, n.11, p.3026–3034, 2002.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.76, n.12, p.3882-3896, 1993.

GRUMMER, R. R. Impact of changes organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Dairy Sci.*, v.73, n.12, p.2820-2833, 1995.

GRUMMER, R. R.; MASHEK D. G.; HAYIRLI A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.20, n.3, p. 25, 2004.

GRUMMER, R. R.; RASTANI, R. R. Why Re-evaluate dry period length? *J. Dairy Sci.*, v.87, n.1, p.77-85, 2004

GUERCI, B.; TUBIANA-RUFI, N.; BAUDUCEAU, B. *et al.* Advantages to using capillary blood beta-hydroxybutyrate determination for the detection and treatment of diabetic ketosis. *Diabetes Metab.*, v.31, n.4, pt.1, p.401–406, 2005.

GURETZKY, N. A. J.; CARLSON, D. B.; GARRETT, J. E. *et al.* Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and Jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. *J. Dairy Sci.*, v.89, n.1, p.188–200, 2006.

HAMMON, H. M.; STÜRMER, G.; SCHNEIDER, F. *et al.* Performance and metabolic and endocrine changes with emphasis on glucose metabolism in high-yielding dairy cows with high and low fat content in liver after calving. *J. Dairy Sci.*, v.92, n.4, p.554 – 1566, 2009.

HAYIRLI, A.; GRUMMER, R. R.; NORDHEIM, E. V. *et al.* Animal and dietary factors affecting feed intake during the pre-fresh transition period in Holsteins. *J. Dairy Sci.*, v.85, n.12, p.3430–3443, 2002.

HEAD, H. H.; GULAY, S. M. Recentes avanços na nutrição de vacas no período de transição. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO DE LEITE – SINLEITE, 2001, Lavras. *Anais...* Lavras: [s.n.], 2001.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.16, n.2, p.215–230, 2000.

HERDT, T. H.; GERLOFF, B. J. Fatty liver in dairy cattle. In: CURRENT veterinary

therapy: food animal practice. 5.ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009. p. 146-149.

HORST, R. L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in dairy cow. *J. Dairy Sci.*, v.69, n.2, p.604-616, 1986.

HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A. *et al.* Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* v.80, n.7, p.1269–1280, 1996.

HORST, R. L.; LITLEDIKE, E. T.; PARTRIDGE, J. J. *et al.* Plasma concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D, 1,24R,25-tri- hydroxyvitamin D₃ and 1,25,26-trihydroxyvitamin D₃ after administration to dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.66, n.7, p.1455–1460, 1983.

INGVARTSEN, K. L. Feeding- and management- related diseases in the transition cow. Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding- related diseases. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.126, n.3-4, p.175–213, 2006.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.*, v.83, n.7, p.1573–1597, 2000.

INGVARTSEN, K. L.; DEWHURST, R. J.; FRIGGENS, N. C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livest. Prod. Sci.*, v.83, n.2-3, p. 277–308, 2003.

IWERSEN, M., FALKENBERG, U.; VOIGTSBERGER, R. *et al.* Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.92, n.6, p.2618-24, 2009.

JEPPESEN, R.; ENEMARK, J. M. D.; ENEVOLDSEN, C. Ketone body measurement in dairy cows. In: WORLD BUIATRICS CONGRESS, 24., 2006, Nice, France. *Proceedings...* Nice: [s.n.], 2006. p.43.

KANEENE, J. B.; MILLER, R. A.; HERDT, T. H. *et al.* The association of serum non esterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. *Prev. Vet. Med.*, v.31, n.1-2, p.59-72, 1997.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic Animal.* 6.ed. San Diego: Elsevier, 2008. 918p.

KATOH, N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.*, v.64, n.4, p.293–307, 2002.

KAUPPINEN, K. Prevalence of bovine ketosis in relation to number and stage of lactation. *Acta Vet. Scand.*, v.24, n.4, p.349-361, 1983.

KEHRLI, M. E. Jr.; GOFF, J. P. Periparturient hypocalcemia in cows: effects on peripheral blood neutrophil and lymphocyte function. *J. Dairy Sci.*, v.72, n.5, p.1188-1196, 1989.

- KERR, M. G. *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology*. 2.ed. Oxford: Blackwell Science, 2002. 386p.
- KREMER, W. D. E. N.; NOORDHUIZEN-STASSEN, F. J.; GROMMERS, Y. H. *et al.* Severity of experimental *Escherichia coli* mastitis in ketonemic and non ketonemic dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.76, n.11, p.3428-3436, 1993.
- LEBLANC, S. J. Health in the transition period and reproductive performance. *WCDS Adv. Dairy Technol.*, v.22, p.97-110, 2010.
- LEBLANC, S. J.; LESLIE K. E.; DUFFIELD T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.88, n.1, p.159-170, 2005.
- LEBLANC, S. J.; LISSEMORE, K.D.; KELTON, D. F. *et al.* Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.89, n.4, p.1267-1279, 2006.
- LI, P.; LI, X. B.; FU, S. X. *et al.* Alterations of fatty acid β -oxidation capability in the liver of ketotic cows. *J. Dairy Sci.*, v.95, n.4, p.1759-1766, 2012.
- LIEN. T. F.; CHANG L. B.; HORNG Y. M. *et al.* Effects of propylene glycol on milk production, serum metabolites and reproductive performance during the transition period of dairy cows asian-aust. *J. Anim. Sci.*, v.23, n.3, p.372 – 378, 2010.
- LITTLEDIKE, E. T.; GOFF, J. Interactions of calcium, phosphorus, magnesium and vitamin D that influence their status in domestic meat animals. *J. Anim. Sci.*, v.65, n.6, p.1727-1743, 1987.
- LUCY, M. C.; VERKERK G. A.; WHYTE B. E. *et al.* Somatotropic axis components and nutrient partitioning in genetically diverse dairy cows managed under different feed allowances in a pasture system. *J. Dairy Sci.*, v.92, n.2, p.526-539, 2009.
- MARGOLLES, E. Metabólitos sanguíneos en vacas altas productoras durante la gestación-lactancia en la condiciones de Cuba y su relación con trastornos del metabolismo. *Rev. Cub. Cienc. Vet.* v.14, p.221-230, 1983.
- MARQUARDT, J. P.; HORST, R. L.; JORGENSEN, N. A. Effect of parity on dry matter intake at parturition in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.60, n.6, p. 929-934, 1977.
- MAYER, G.P.; RAMBERG, C.F.; KRONFELD, D.S. Plasma parathyroid hormone concentrations in hypocalcemic parturient cows. *Am. J. Vet. Res.*, v.30, n.9, p.1587-1595. 1969.
- McART, J. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. A field trial on the effect of propyleneglycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.*, v.94, n.12, p.6011 – 6020, 2011.
- MCART, J.A.A.; NYDAM, D.V.; OETZEL, G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.95, n.9, p.5056-5066, 2012.

- MEPHAN, T. B. Nutrient uptake by lactating mammary gland. *In: GARNSEORTHY, P. C. Nutrition and lactation in dairy cow.* London: Butterworths, 1988. p.15 -31.
- MOORBY, J. M.; DEWHURST, R. J.; TWEED, J. K. S. *et al.* Effects of altering the energy and protein supply to dairy cows during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J. Dairy Sci.* v.83, n.8, p.1795-1805, 2000.
- MORAES, M. P.; WEIBLEN, R.; SILVA, A. M. *et al.* Evolução da imunidade passiva em fêmeas bovinas da raça Holandesa. *Ciênc. Rural*, v.27, n.3, p.435-440, 1997.
- MOREIRA, T. F. *Perfil metabólico de vacas leiteiras no período de transição em sistema semi-intensivo em Minas Gerais no verão e no inverno.* 2013. 122f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- MULLIGAN, F. J.; DOHERTY, M. L. Production diseases of the transition cow. *Vet. J.*, v.176, n.1, p.3 - 9, 2008.
- MURRAY, R. K., GRANNER, D. K., MAYES, P. A., RODWELL, V. W. *Harper: bioquímica.* 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994.
- NIELEN, M.; AARTS, M. G. A.; JONKERS, A. G. M. *et al.* Evaluation of two cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Can. Vet. J.* v.35, n.4, p.229-232, 1994.
- NUTRITIONAL requirements of dairy cattle. Washington D.C. National Academy Press, 2001. 370p.
- OETZEL, G. R. Evaluation of the hand-held Precision Xtra system for diagnosing ketosis in early lactation dairy cows. *J. Anim. Sci.* v.88, p.526, 2010.
- OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic diseases. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.*, v.20, n.3, p.651-674, 2004.
- OETZEL, G. R. Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock. In *Metabolic Diseases of Ruminant Livestock. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.4, n.2, p.351-364, 1988.
- OETZEL, G. R.; MCGUIRK, S. *Cow side blood BHBA testing with a hand-held "ketometer" fact sheet.* Wisconsin: University of Wisconsin-Madison, School of Veterinary Medicine, 2007.
- OSPINA, P. A.; NYDAM D. V.; STOKOL T.; *et al.* Evaluation of non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeast United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.*, v.93, n.2, p.546-554, 2010a.
- OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL T.; *et al.* Associations of elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *J. Dairy Sci.* v.93, n.8, p.3596-3603, 2010b.

- PARK, A. F.; SHIRLEY, J. E.; TITGEMEYER, E. C.; *et al.* Characterization of plasma metabolites in holstein dairy cows during periparturient period. *Int. J. Dairy Sci.*, v.5, n.4, p.253-263, 2010.
- PAYNE, J. M.; DEW, S. M.; MANSTON, R.; FAULKS, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. *Vet. Rec.*, v.87, n.6, p.150-157, 1970.
- PAYNE, J. M.; PAYNE, S. *The metabolic profile test*. Oxford: Oxford University Press, 1987.
- PEARSON, E. G.; DIRKSEN, G.; MEYER, J. *et al.* Evaluation of liver functions tests in neonatal calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.207, n.11, p.1466 – 1468, 1995.
- POGLIANI, F. C.; BIRGEL JUNIOR E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.44, n.5, p.373-383, 2007.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W. *et al. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10.ed., Philadelphia: Elsevier, 2007. 2156p.
- REINHARDT, T. A.; HORST, R. L.; GOFF, J. P. Calcium, phosphorus and magnesium homeostasis in ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.4, n.2, p.331-350, 1988.
- REYNOLDS, C. K.; AIKMAN, P. C.; LUPOLI, B. *et al.* Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.*, v.86, n.4, p.1201-1217, 2003.
- ROBERTS, T.; CHAPINAL N.; LEBLANC S. J. *et al.* Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *J. Dairy Sci.*, v.95, n.6, p.3057–3063, 2012.
- ROCHE J. R.; FRIGGENS N. C.; KAY J. K. Berry Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.*, v.92, n.12, p.5769–5801, 2009.
- RONALD, N. Precision Xceed Pro System, an advanced point-of-care system for measuring blood glucose and ketone. *Point Care*, v.7, n.3, p.161, 2008.
- SCHWALM, J. W.; SCHULTZ, L. H. Relationship of insulin concentration to bloodmetabolites in the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, v.59, n.2, p.255-261, 1976.
- SEIFTER, S.; ENGLARD, S. Energy metabolism. In ARIAS, I. M.; BOYLER, J. L. *The liver: biology and pathology*. 3.ed. New York: Raven Press Ltd, 1994. p.323-364.
- SISTEMA para análise estatísticas e genéticas: manual do usuário, versão 9.1. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- SMITH, B. P. *Large animal internal medicine*. 4.ed. St. Louis; Missouri-US: Mosby-Elsevier, 2009. 1821p.

SMITH, B. P. *Medicina interna de grandes animais*. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728 p.

SOUZA JÚNIOR, J. A. *Influência da adição de monensina e propilenoglicol na dieta do periparto de vacas leiteiras sobre o comportamento das concentrações de cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio*. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

SOUZA JÚNIOR, J. A.; MOREIRA, T. F.; LASMAR, P. V. F. *et al.* Efeito da adição de monensina ou propilenoglicol na dieta de vacas leiteiras no periparto sobre concentrações séricas de minerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 9., 2011, Goiânia; *Vet. Zootec.*, v.18, n.4, supl.3, p.636-639, 2011.

STENGÄRDE, L. *Displaced abomasum and ketosis in dairy cows blood profiles and risk factors*. 2010. 76f. Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine) - Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala, Suécia.

STENGÄRDE, L.; TRÅVÉN, M.; EMANUELSON, U. *et al.* Metabolic profiles in five high-producing Swedish dairy herds with a history of abomasal displacement and ketosis. *Acta Vet. Scand.*, v.50, n.31, p.1-11, 2008.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. *Fundamental of veterinary clinical pathology*. Ames Iowa: Blackwell, Publishing, 2008. 908 p.

TAYLOR, M. S.; KNOWTON, K. F.; MCGILLIARD, M. L. *et al.* Blood mineral,

hormone, and osteocalcin responses of multiparous jersey cows to an oral dose of 25-hydroxyvitamin D3 or vitamin D3 before parturition. *J. Dairy Sci.*, v.91, n.6, p.2408-2416, 2008.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. *et al.* *Veterinary hematology and clinical chemistry*. 2.ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2012. 776p.

VALLIMONT, J. E.; VARGA, G. A.; ARIELI, A. *et al.* Effects of prepartum somatotropin and monensin on metabolism and production of periparturient holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* v.84, n.12, p.2607-2621, 2001.

VAN DEN TOP, A. M.; GEELEN M. J. H.; WENSING T. *et al.* Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyl-transferase. *J. Nutr.*, v.126, n.1, p.76-85, 1996.

VAN DEN TOP, A. M.; WENSING, T.; BEYNEN, A. C. Influence of replacement of dietary hay by an isoenergetic amount of a concentrate rich in medium chain triacylglycerols on fat metabolism in goats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, v.73, n.1-5, p.104-112, 1995a.

VAN DEN TOP, A.M.; WENSING, T.; GEELEN, M.J.H. *et al.* Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacylglycerol during postpartum development of fatty liver in dairy cows. *J Dairy Sci.*, v.78, n.10, p.2208-2220, 1995b.

VAN DORLAND, H. A.; RICHTER S.; MOREL I. *et al.* Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.92, n.5, p.1924–1940, 2009.

VAN KNEGSEL, A. T. M.; VAN DEN BRAND, H.; GRAAT, E. A. M. *et al.* Dietary energy source in dairy cows in early lactation: Metabolites and metabolic hormones. *J. Dairy Sci.*, v.90, n.3, p.1477–1485, 2007.

VAZQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS S.; LUCK M. *et al.* Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.77, n.6, p.1521–1528, 1994.

VERNON, R. G. The partition of nutrient during the lactation cycle. In GARNSWORTHY, P. C. *Nutrition and lactation in dairy cow*. London: Butterworths, 1988. p.32 – 52.

VILLA-GODOY, A.; HUGHES, T. L.; EMERY, R. S. *et al.* Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.71, n.4, p.1063-1072, 1988.

VOYVODA, H.; ERDOGAN, H. Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Res Vet Sci.*, v.89, n.3, p.344-351, 2010.

WHITAKER, D. A. Metabolic profiles. In: ANDREWS A. H.; BLOWEY R. W.; BOYD, H.; EEDDY R. G. (Eds), *Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle*. 2.ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2004. p.804-817

WILSON, G. D. A.; HUNTER, J. T.; DERRICK, G. H. *et al.* Fetal and maternal mineral concentrations in dairy cattle during late pregnancy. *J. Dairy Sci.*, v.60, n.6, p.935- 941, 1977.

WITTIWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F. H. D. ; BARCELLOS, J.; OSPINA PATINO, H.; RIBEIRO, L. A. (Eds). *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da UFRGS, 2000a. 106p.

WITTIWER, F. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: GONZÁLEZ, F. H. D. ; BARCELLOS, J.; OSPINA PATINO, H.; RIBEIRO, L. A. (Eds). *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da UFRGS. 2000b. 106p.

WITTIWER, F.; CONTRERAS, P. A. Consideraciones sobre el empleo de los perfiles metabólicos em ganado lechero. *Arch. Med. Vet.*, v.12, n.1, p.180 – 188, 1980.

YOUNG, J. W. Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology. *J. Dairy Sci.*, v.60, n.1, p.1, 1977.