



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Comissão de Residência Multiprofissional em  
Área Profissional da Saúde – COREMU**

**PROGRAMA DE RESIDÊNCIA  
MULTIPROFISSIONAL E EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE**

## **CLÍNICA DE RUMINANTES**

**INFLUÊNCIA DA DIETA ANIÔNICA SOBRE OS PARÂMETROS  
CLÍNICOS, HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE NOVILHAS  
LEITEIRAS INDUZIDAS À HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA NO PRÉ-  
PARTO**

**Camila Pizoni**

**Pelotas, RS, Brasil  
2015**

Relatório apresentado à Comissão de Residência Multiprofissional e em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista.

---

**Orientador acadêmico: Prof<sup>a</sup>. Viviane Rohrig Rabassa**

---

**Acadêmico: Camila Pizoni**

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por iluminar meus passos e me dar forças para seguir traçando meu caminho.

Aos meus pais Ibanor Pizoni, Lídia Motter Pizoni, minha irmã Carolina Pizoni e meu noivo Fabrício Marques pelo apoio durante a residência, por entender que os momentos de ausência foram necessários para o meu crescimento.

A minha orientadora Viviane Rohrig Rabassa pela orientação e amizade desde antes da residência.

Ao Nupeec por ter me proporcionado diferentes cenários de atuação durante os dois anos da especialização e por acreditar no meu trabalho.

Aos meus amigos e colegas do Nupeec pelo trabalho em equipe que me proporcionou chegar até aqui, em especial Josiane Feijó e Fabiane Moraes.

As amigadas construídas dentro do hospital veterinário e que agora levarei para vida toda, em especial Alice Correa, Patrícia Vieira e Bárbara Scherer.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma fizeram parte dessa caminhada.

## **Resumo**

Pizoni, Camila. Influência da dieta aniônica sobre os parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de novilhas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica no pré-parto. 2015. 41p. Relatório de Conclusão de Especialização, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

A Residência Profissional em Área da Saúde, com ênfase em Clínica de Ruminantes foi realizada no período de Março de 2013 a Fevereiro de 2015, com carga horária total de 5880 horas. Teve como cenário de atuação o Hospital Veterinário da Universidade Federal de Pelotas, com sede no município de Capão do Leão - RS, Granjas 4 Irmãos, situada no município de Rio Grande - RS e algumas outras propriedades particulares parceiras do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC). Dentre a casuística mais acompanhada podem ser citados problemas de casco, distúrbios nutricionais e procedimentos cirúrgicos. Outra etapa da residência foi a execução de um projeto de pesquisa que originou um artigo intitulado "Influência da dieta aniônica sobre os parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de novilhas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica no pré-parto" que está descrito nesse relatório. Os dois anos da Residência foram extremamente válidos para minha formação profissional, pois além de aprimorar meu conhecimento prático, permitiu exercitar de forma constante minha habilidade teórica.

Palavras - chave: clínica de ruminantes, hospital veterinário, bovinos leiteiros.

## Sumário

1. Introdução.....	6
2. Relatório de Casuística.....	8
2.1 Hospital de Clínicas Veterinária (HCV).....	8
2.2 Granjas 4 Irmãos.....	10
2.2.1 Atendimentos Leitaria e Gado de Corte.....	10
2.2.2 Atendimentos Bezerreira.....	12
2.2.3 Manejo Sanitário.....	13
3. Artigo.....	14
4. Considerações Finais.....	30
5. Referências Bibliográficas.....	31
6. Anexo 1 - Projeto de Pesquisa.....	33
7. Anexo 2 - Cadastro do Projeto de Pesquisa.....	42

## 1. INTRODUÇÃO

A agropecuária no Brasil tem papel fundamental no desenvolvimento da economia do país. Sua função é fornecer alimentos a preços acessíveis para a população, além da geração de emprego, renda e mercado consumidor para bens industrializados (USDA, 2014).

A ovinocultura exerce papel fundamental no desenvolvimento socioeconômico no mundo, estando presente em praticamente todos os continentes, devido à grande adaptabilidade da espécie a diferentes climas, relevos e vegetações. O rebanho brasileiro possui entorno de 17 milhões de cabeças, que são utilizadas como fonte de carne, leite, pele e lã. Com um crescimento de 12% nos últimos quatro anos, o Rio Grande do Sul é o estado que mais possui exemplares da espécie, em torno de 4,4 milhões de cabeças (IBGE, 2013). Nos últimos anos a importância da produção da carne ovina vem aumentando, principalmente devido ao seu preço estar mais atrativo ao produtor. Contudo o consumo da mesma é relativamente inferior quando comparado às demais carnes como bovina, suína e de aves. Acredita-se que o estímulo para uma maior aceitação deste alimento seja uma boa estratégia para aumento do consumo e conseqüentemente da produção e desenvolvimento da atividade no país (VIANA, 2008).

A pecuária bovina é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e conseqüentemente da economia nacional, já que o Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, e é o segundo maior exportador de carne, perdendo apenas para os EUA. O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo e a sua produção vem crescendo bastante nos últimos anos. De acordo com os dados do IBGE (2013) a produção passou de 26 para 35 bilhões de litros, nos últimos 6 anos, o que conseqüentemente trouxe um aumento também na ocorrência de transtornos metabólicos no pós-parto de vacas leiteiras.

De todas as espécies citadas a casuística atendida na residência foi maior na área de bovinocultura leiteira em razão de um dos principais cenários ter sido uma fazenda com foco em pecuária de leite e corte. Por isso o artigo confeccionado para esse trabalho teve foco em bovinocultura leiteira.

Na bovinocultura leiteira o período de transição (21 dias pré e 21 dias pós-parto) (GRUMMER, 1995) é o momento em que a vaca é mais desafiada. Nesse período, o animal passa por diversas mudanças metabólicas e energéticas o que pode afetar a futura lactação de forma negativa. Durante o periparto a vaca passa por um estado de imunossupressão, decorrente das alterações do padrão de consumo alimentar e das alterações metabólicas (GOFF, 1997; LEBLANC *et al.*, 2006).

Com as mudanças no metabolismo mineral e energético e a alteração da capacidade imune, o animal se torna mais suscetível a desenvolver doenças como hipocalcemia clínica, cetose, deslocamento de abomaso, mastite e metrite no pós-parto (GOFF, 1997), sendo que a ocorrência dessas enfermidades é diretamente ligada a hipocalcemia já que no momento do parto ou próximo a ele a maioria das vacas apresenta alteração nos níveis de cálcio (HORST *et al.*, 1997) podendo ou não manifestar sinais clínicos.

A hipocalcemia clínica pode acometer 5% de um rebanho leiteiro, enquanto a subclínica chega a acometer 54% do rebanho (REINHARDT, 2011), desta forma, Martinez et al. (2012) relatam que apesar de a hipocalcemia clínica ser responsável por perdas produtivas consideráveis, a hipocalcemia subclínica é a que causa mais prejuízos.

Para evitar que o período de transição seja um entrave na saúde da vaca e na produção de leite, diversas medidas são tomadas para minimizar seus efeitos, uma delas é a utilização de sais aniônicos na dieta de vacas pré-parto com o objetivo de prevenir a hipocalcemia (WILKENSE et al, 2012).

Nesse cenário o Médico Veterinário torna-se uma importante peça na prevenção da hipocalcemia e outras doenças de produção dos ruminantes.

A Residência em Clínica de Ruminantes abrange os diferentes sistemas do organismo animal. E por ser uma especialidade que trata animais de produção, é de suma importância. O especialista em clínica de ruminantes deve ser capaz de cuidar não só da saúde de cada paciente mas também da sanidade de todo rebanho, podendo melhorar índices produtivos e reprodutivos.

## 2. RELATÓRIO DE CASUÍSTICA

A residência em Clínica de Ruminantes compreendeu atividades diárias que totalizavam 60 horas semanais. Essas horas eram divididas entre atendimentos clínicos no Hospital Veterinário da UFPel, rotina clínica na Granjas 4 Irmãos, e atividades teóricas.

Semanalmente eram realizadas atividades teóricas em que eram feitos rounds sobre a clínica de ruminantes e executadas oficinas teórico/práticas para sanar dúvidas sobre a área.

Como a residência é uma especialização assistida, na clínica de ruminantes haviam preceptores envolvidos em todas as atividades. Os preceptores eram os veterinários que supervisionavam e auxiliavam nas tarefas práticas e teóricas. Durante o período de residência os preceptores foram a doutoranda Paula Montagner, as pós doutorandas Raquel Raimondo e Beatriz Riet Correa Rivero, o prof. Marcio Nunes Corrêa e a tutora prof<sup>a</sup>. Viviane Rohrig Rabassa.

### 2.1 Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV) da UFPel

O HCV conta com uma estrutura de três pavilhões. No primeiro pavilhão localiza-se o setor administrativo, clínica e cirurgia de pequenos animais, estoque de medicamentos e sala de radiologia e ultrassonografia. O segundo pavilhão compreende o setor de grandes animais, onde está localizada a estrutura para internamento dos animais, além dos troncos de contenção, bloco cirúrgico e o centro de manejo; ele é ocupado geralmente por animais da espécie equina ou eventualmente algum ruminante que necessite de internação estabulada. O terceiro pavilhão é onde ficam alocados os ovinos e bezerras. O HCV, conta ainda com o laboratório de patologia clínica e alguns piquetes com pastagem para os animais.

Os atendimentos realizados no cenário HCV compreendiam casos clínicos provenientes da Fazenda da Palma, que é propriedade da UFPel; da EMBRAPA Clima Temperado, que possui rebanho leiteiro, ovino e bubalino próximo à universidade; e particulares, que eram trazidos pelos proprietários, ou ainda que eram atendidos diretamente nas propriedades rurais.

A rotina clínica do HCV era diária. O número total de animais atendidos no hospital durante a residência foi de 615, compreendendo atendimentos clínicos, procedimentos de manejo e cirúrgicos. Os ruminantes que chegavam ao HCV passavam por um procedimento padrão de anamnese e exame clínico geral e posteriormente se necessário eram realizados exames clínicos específicos e exames complementares como hemograma, raio-x e ultrassonografia. Na tabela 1 é possível observar a casuística clínica de ruminantes no período de março de 2013 a fevereiro de 2015.

**Tabela 1:** Casuística clínica acompanhada no HCV no período de mar 2013/ fev2015.

Casuística clínica (Alterações clínicas)	Nº de avaliações	Bovinos	Ovinos	Caprinos	%
--	------------------	---------	--------	----------	---



Diarreia Viral Bovina/Rinotraqueite Viral					
Bovina	300	300	-	-	60,24
ECOSUL	79	77	3	-	15,86
Tristeza Parasitária Bovina	53	53	-	-	10,64
Diarreia	32	23	9	-	6,43
Broncopneumonia	6	6	-	-	1,20
Acidose ruminal	5	2	3	-	1,00
Tumor de terceira pálpebra	4	4	-	-	0,80
Alcalose ruminal	3	1	3	-	0,60
Laceração de pele	3	1	2	-	0,60
Subnutrição	3	2	-	1	0,60
Artrite séptica	2	2	-	-	0,40
Sinusite	2	2	-	-	0,40
Urolitíase	2	-	1	1	0,40
Hipocalcemia	1	1	-	-	0,20
Indigestão simples	1	1	0	-	0,20
Laminite	1	1	0	-	0,20
Parto distócico	1	-	-	1	0,20
<b>TOTAL</b>	<b>419</b>				<b>100%</b>

Era realizado também, o recebimento de animais provenientes da ECOSUL, Concessionária de Rodovias, que possui um convênio com o HCV. Os animais provenientes da empresa são levados ao HCV após serem encontrados e apreendidos nas rodovias. Os ruminantes apreendidos pela ECOSUL passavam por exame clínico, vacinação contra raiva, vermifugação e chipagem nas fêmeas, além do diagnóstico de gestação. Esses animais permaneciam no HCV até que o proprietário viesse retirá-lo. Em caso de acidente de trânsito envolvendo animais, a ECOSUL também encaminhava o animal ao HCV para que fossem realizados os procedimentos clínicos adequados. Caso se passasse mais de três meses da chegada do animal, o mesmo era encaminhado para leilão, que era organizado pela própria empresa. Todos os machos que foram encaminhados para leilão foram previamente orquiectomizados.

Na tabela 2 estão listados os procedimentos de manejo executados no HCV, entre eles casqueamento dos ovinos e bovinos internados e diagnóstico de gestação dos mesmos.

**Tabela 2:** Procedimentos de manejo executados no HCV no período de mar 2013/ fev 2015.

Procedimentos	Nº de animais	Bovinos	Ovinos	Caprinos	%
Diagnóstico de gestação	59	52	6	1	70,2
Casqueamento	25	5	20	-	29,7
<b>TOTAL</b>	<b>84</b>				<b>100%</b>

No HCV Foram realizados também alguns procedimentos cirúrgicos como mostra a tabela 3.

**Tabela 3:** Procedimentos cirúrgicos realizados no HCV no período de mar 2013/ fev 2015

Procedimentos cirúrgicos	Nº de casos	Bovinos	Ovinos	%
Orquiectomia	15	10	5	45,4
Cesariana	4	3	1	12,1
Deslocamento de abomaso	3	3	1	9,09
Excisão de terceira pálpebra	3	3	-	9,09

Mochamento	3	3		9,09
Enucleação	2	2	-	6,06
Mastectomia	2	1	1	6,06
Correção de Prolapso de vagina	1	1	-	3,03
<b>TOTAL</b>	<b>33</b>			<b>100%</b>

No hcv, também era realizado manejo sanitário dos animais internados. Periodicamente eram realizadas coletas de fezes para realização de coprocultura e exame de Gordon & Withlock, vermifugação e vacinação (raiva e febre aftosa).

## **2.2 Granjas 4 Irmãos**

A Granjas 4 Irmãos é uma propriedade que conta com quatro atividades agrícolas: arroz, soja, pecuária de leite e pecuária de corte. Na residência a atuação ocorria nas pecuárias de corte e leite, com maior ênfase na segunda.

A leitaria conta com instalações que atendem sua demanda. A sala de ordenha é do tipo espinha de peixe com capacidade para 40 animais, com 40 conjuntos de ordenha. A sala de espera é coberta e com piso de concreto. No mesmo prédio localizam-se salas auxiliares que servem de depósito, a sala dos tanques e o escritório, além de dois banheiros. Ao lado do prédio há uma mangueira com brete para eventuais manejos. Em frente à sala de ordenha encontra-se a pista de acesso à praça de alimentação que conta com um bebedouro e também ao tronco de contenção com capacidade para dez animais, onde é realizado o manejo reprodutivo das vacas. Ao lado do tronco localiza-se a farmácia, e também uma sala auxiliar.

A praça de alimentação tem capacidade para 230 animais de cada lado. O tambo ainda conta com um galpão onde são armazenados os insumos onde eram misturados os ingredientes da ração. A bezerreira é composta por 198 casinhas individuais e estrutura necessária para depósito de ração e pasteurização do leite.

### **2.2.1 Atendimentos Leitaria e Gado de corte**

Durante a residência foram realizados 13.084 atendimentos nos animais da granja. As atividades da clínica de ruminantes dentro da leitaria abrangiam todos os setores. No setor do gado de corte houveram dois momentos em que o nosso serviço foi solicitado. O primeiro momento foi em um surto de cetose de vacas no pós-parto recente, em que houve uma troca de alimentação e os animais passaram por um déficit energético, e o segundo momento, em um surto de alcalose ruminal em vacas no período pré-parto, devido a putrefação do alimento que os animais recebiam (tabela 4).

No tambo as vacas que apresentassem sintomatologia de algum distúrbio clínico eram separadas para que pudessem ser avaliadas. Essas passavam por exame clínico geral e específico dependendo do caso. Na tabela 4 é possível observar a casuística dos animais em ordenha.

**Tabela 4:** Casuística clínica acompanhada na leitaria da Granjas 4 Irmãos durante a residência

<b>Casuística Granjas 4 Irmãos</b>	<b>Nº de avaliações</b>	<b>%</b>
Transtornos Metabólicos	245	39,5
Transtornos Circulatórios	132	21,3
Transtornos Locomotores	101	16,3
Clínica da Reprodução	72	11,6
Transtornos Respiratórios	34	5,5
Transtornos da glândula mamária	22	3,5
Transtornos oculares	14	2,3
<b>TOTAL</b>	<b>646</b>	<b>100%</b>

Os transtornos metabólicos atendidos foram alguns quadros de vacas caídas na leitaria e principalmente o surto de cetose e alcalose no gado de corte. Entre os transtornos circulatórios foi atendido um surto de casos de tristeza parasitária bovina causada por *Anaplasma marginalis*. Foi realizada coleta de sangue para diagnóstico da doença a partir de sinais como apatia, perda de apetite e morte súbita dos animais.

No sistema locomotor foram realizados casqueamentos terapêuticos em decorrência de lesões nos cascos como úlcera de sola, hematoma de sola e doença da linha branca e um caso de dermatite interdigital.

Alguns casos de broncopneumonia foram tratados. Os animais que começavam a apresentar sinais clínicos de secreção nasal e apatia eram separados para exame clínico, diagnóstico e tratamento.

Os quadros relacionados a reprodução abrangeram casos de auxílio ao parto, tratamento de animais com retenção de placenta, metrite e endometrite além do tratamento de lesões no trato reprodutivo, como miíase e carcinoma de células escamosas.

Em geral os casos de mastite clínica eram tratados pelos funcionários da granja. Os casos relacionados aos transtornos da glândula mamária que foram atendidos eram referentes a quadros de mastite grave em que havia comprometimento de tecido mamário.

Os casos clínicos envolvendo transtornos oculares eram de animais com cegueira e apresentação de conjuntivite, em que era realizada limpeza local e curativo.

Na tabela 5 estão descritos os procedimentos cirúrgicos executados durante o período de residência.

**Tabela 5:** Procedimentos cirúrgicos realizados nos animais da leitaria da Granjas 4 Irmãos durante a residência

<b>Casuística Granjas 4 Irmãos</b>	<b>Nº de animais</b>	<b>%</b>
Excisão de terceira pálpebra	15	57,69
Enucleação	5	19,23
Cesariana	4	15,38
Deslocamento de abomaso	1	3,85
Mastectomia	1	3,85
<b>TOTAL</b>	<b>26</b>	<b>100%</b>

Alguns procedimentos de manejo também eram executados na leitaria, como descritos na tabela 6.

**Tabela 6:** Procedimentos de manejo executados na Granjas 4 Irmãos no período de mar 2013/ fev 2015.

<b>Procedimento</b>	<b>Nº de animais</b>	<b>%</b>
Escore de condição corporal(ECC)	4807	44,34%
Escore de Locomoção (EL)	3604	33,24%
Controle Leiteiro	2280	21,03%
Diagnóstico de gestação	150	1,38%
<b>TOTAL</b>	<b>10841</b>	<b>100%</b>

O diagnóstico de gestação (tabela 6) foi realizado em animais que iriam iniciar o período seco e os demais em animais iriam ser comercializados. O diagnóstico era feito através de palpação retal.

O escore de condição corporal era realizado nos lotes de vacas em ordenha, dessa forma era possível a tomada de providências sobre a alimentação dos animais pelo administrador. Juntamente com o escore de condição corporal era realizado o escore de locomoção para que fosse feito um controle dos animais com escore mais elevado, que é o mais prejudicial e a partir do diagnóstico do rebanho fossem propostas medidas para reduzir o escore e conseqüentemente as perdas produtivas geradas pelos problemas de casco. A avaliação também era feita trimestralmente, mas no último ano no período de julho a dezembro o escore foi realizado mensalmente em decorrência de um aumento nos casos de manqueira das vacas em ordenha devido à ocorrência de muitas chuvas na propriedade.

### 2.2.2 Atendimentos Bezerreira

A rotina se estendia a todos os animais pertencentes à leitaria. Na bezerreira era realizado a cada três meses o acompanhamento da prevalência das principais enfermidades que acometiam essa categoria. Os animais eram avaliados quanto a presença de transtornos digestórios, entre eles diarreia e timpanismo; transtornos respiratórios, como tosse, estertoração traqueal e pulmonar; e onfalopatias, como hérnia umbilical, úraco persistente e miíase. Outras enfermidades também foram vistas, entre elas, três casos de artrite séptica, e as demais foram decorrentes de lesão de pele. Depois da avaliação os animais doentes eram encaminhados para o tratamento realizado de acordo com o protocolo da propriedade. Na tabela 7 é possível visualizar o número de diagnósticos realizados na bezerreira durante a residência.

**Tabela 7:** Casuística acompanhada na bezerreira da Granjas 4 Irmãos no período da residência.

<b>Casuística</b>	<b>Nº de animais</b>	<b>%</b>
Transtornos respiratórios	296	41,87%
Transtornos digestórios	214	30,27%
Onfalopatias	175	24,75%
Outros	22	3,11%
<b>TOTAL</b>	<b>707</b>	<b>100%</b>

Na bezerreira também foi realizado um treinamento técnico com as funcionárias que abordava temas como locais para aplicação de medicação, sinais clínicos que devem ser considerados na hora de tratar um animal, importância da taxa de mortalidade dos animais para o sistema, saúde das funcionárias e trabalho em equipe.

Foram realizadas também algumas atividades de manejo de rebanho listadas na tabela 8. A vacinação descrita abaixo foi realizada para imunizar os animais contra ceratoconjuntivite.

**Tabela 8:** Procedimentos de manejo executados nas bezerras da Granjas 4 Irmãos no período da residência

<b>Procedimento</b>	<b>Nº de animais</b>	<b>%</b>
Brincagem	240	27,59%
Vacinação	240	27,59%
Vermifugação	240	27,59%
Mochamento	150	17,24%
<b>TOTAL</b>	<b>870</b>	<b>100%</b>

### **2.2.3 Manejo sanitário**

Na granja, além dos atendimentos e acompanhamento do controle leiteiro era realizado acompanhamento do manejo sanitário de vacinações. Os animais eram vacinados contra brucelose, rinotraqueite infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), parainfluenza tipo 3 (PI3), vírus sincicial respiratório bovino (BRSV), leptospirose, clostridioses e mastite.

1 **3. ARTIGO**

2 **Formatado segundo a revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**  
3 **Zootecnia**

4 **Influência da dieta aniônica sobre os parâmetros clínicos, hematológicos e**  
5 **bioquímicos de novilhas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica no pré-parto**  
6 **Influence of anionic diet on clinical, haematological and biochemical parameters of**  
7 **dairy heifers induced to subclinical hypocalcemia on parturition**

8 Camila Pizoni<sup>1\*</sup>, Josiane de Oliveira Feijó<sup>1</sup>, Rubens Alves Pereira<sup>1</sup>, Marcio Nunes  
9 Corrêa<sup>1</sup>, Cassio Cassal Brauner<sup>1</sup>, Francisco Augusto Burkert Del Pino<sup>1</sup>, Viviane Rohrig  
10 Rabassa<sup>1</sup>

11 <sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas

12 camila.pizonivet@gmail.com.br

13 **RESUMO**

14 O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de  
15 novilhas da raça Holandês, induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes  
16 períodos de fornecimento de dieta aniônica no pré-parto. Foram utilizadas nove novilhas  
17 da raça holandês 30 dias pré-parto induzidas à hipocalcemia subclínica, divididas em  
18 3 grupos: G0 = sem receber dieta aniônica antes da indução; G11 = onze dias de dieta  
19 aniônica antes da indução; e G15 = quinze dias de dieta aniônica antes da indução. Foi  
20 realizado exame clínico dos animais antes e depois da indução. Foram avaliados cálcio  
21 total e ionizado, magnésio e albumina nos dias -2, 0, 1, 2 e 3, sendo o dia 0 o momento  
22 da indução; pH urinário, leucograma, proteínas totais e fibrinogênio foram avaliados  
23 nos dias 0, 1, 2 e 3. O G11 apresentou maiores concentrações de cálcio total que o G0 e  
24 G15 (P< 0,01). A concentração média de cálcio ionizado foi maior no G11 comparado

25 com o G0 e igual ao G15 ( $P < 0,01$ ), sendo que o G11 diferiu dos demais grupos nos dias  
26 0, 1 e 3 ( $P = 0,01$ ). O Magnésio teve maiores valores no G15 quando comparado aos  
27 outros dois grupos ( $P < 0,01$ ). A albumina não apresentou diferença entre grupos ou  
28 coletas. Houve diferença nos valores de monócitos e bastonetes entre os grupos durante  
29 todo período, sendo que o G0 apresentou os maiores valores comparado aos outros dois  
30 grupos ( $P < 0,01$ ). Os valores de fibrinogênio, leucócitos totais, linfócitos e eosinófilos  
31 não diferiram. O tempo de fornecimento da dieta aniônica por onze dias foi suficiente  
32 para manter a homeostase do cálcio, a manutenção do magnésio e a resposta leucocitária  
33 em novilhas desafiadas a uma diminuição do cálcio sanguíneo.  
34 Palavras-chave: dieta pré-parto, cálcio, nulíparas, células de defesa.

35

#### 36 **ABSTRACT**

37 The aim of this study was to evaluate the clinical, hematological and biochemical  
38 parameters of the Holstein dairy heifers, induced to subclinical hypocalcemia, subjected  
39 to different periods of anionic diet supply during antepartum. There were used nine  
40 Holstein dairy heifers, 30 days before calving, induced to subclinical hypocalcemia and  
41 sorted in 3 groups: G0 = didn't receive anionic diet before the induction; G11 = received  
42 the anionic diet for eleven days before the induction; and G15 = received fifteen days of  
43 anionic diet before the induction. Clinical examinations of the animals were held before  
44 and after the induction. The total and ionized calcium, magnesium and albumin from the  
45 days -2, 0, 1, 2 and 3 were evaluated, being day 0 the moment of induction; urinary pH,  
46 leukogram, total proteins and fibrinogen were evaluated at the days 0, 1, 2 and 3. G11  
47 presented a bigger total calcium concentration than G0 and G15 ( $P < 0,01$ ). The average  
48 concentration of ionized calcium was bigger at the G11 when compared to G0 but it was

49 equal to G15 ( $P < 0,01$ ) given that G11 differed from the others during day 0, 1 and 3  
50 ( $P = 0,01$ ). Magnesium had its highest values at G15 when compared to the other two  
51 groups ( $P < 0,01$ ). Fibrinogen, total leukocytes, lymphocytes and eosinophils' values  
52 didn't differ. The eleven days of anionic diet supply were enough to keep the calcium's  
53 homeostasis, the magnesium's maintenance and the leukocytes' response into heifers  
54 defied to a diminution of blood calcium.

55 Keywords: dietary prepartum, calcium, nulliparas, defence cells.

56

## 57 **INTRODUÇÃO**

58 A hipocalcemia é uma doença metabólica que afeta vacas de alta produção de  
59 leite no pré-parto e início de lactação quando há um rápido declínio nas concentrações  
60 de cálcio total e ionizado no sangue, devido à mobilização desse mineral para a  
61 formação fetal e produção de leite (Lean *et al.*, 2006). A homeostase do cálcio é controlada  
62 por três hormônios: o paratormônio (PTH), o calcitriol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) e a calcitonina. Falhas  
63 nesse controle no início da lactação fazem com que ocorra diminuição da absorção  
64 intestinal, reabsorção renal de cálcio e desmineralização óssea (Goff, 2008), visto que  
65 nos primeiros dias de lactação a vaca demanda de 7 a 10 vezes mais cálcio do que o  
66 cálcio total presente no sangue (Horst *et al.*, 2005).

67 Os níveis fisiológicos de cálcio total em uma vaca adulta devem permanecer  
68 entre 8,5 e 10 mg/dL. Vacas com níveis entre 8,0 e 5,5mg/dL são consideradas em  
69 hipocalcemia subclínica enquanto que abaixo de 5,5mg/dL apresentam o quadro clínico  
70 da doença (Goff, 2014).

71 A Hipocalcemia subclínica está associada a diversos distúrbios metabólicos do  
72 pós-parto. A diminuição do cálcio total e ionizado interfere em vários processos que



73 envolvem a contração celular, refletindo na motilidade gastrointestinal diminuindo a  
74 ingestão de matéria seca (IMS), ocasionando problemas metabólicos, como, síndrome  
75 da vaca caída (Brozos *et al.*, 2011), cetose (Kara, 2013) e deslocamento de abomaso  
76 (Chapinal *et al.*, 2011); contração uterina, causando retenção de placenta (Martinez *et*  
77 *al.*, 2012). Além disso, a queda do cálcio pode reduzir a capacidade das células do  
78 sistema imune de responder a estímulos, contribuindo para infecções como a mastite e  
79 metrite (Kimura *et al.*, 2006; Martinez *et al.*, 2012), devido a sua função na sinalização  
80 celular.

81 Como estratégia preventiva, os sais aniônicos têm sido utilizados a fim de  
82 auxiliar na homeostase do cálcio e redução dos distúrbios metabólicos no pós-parto. A  
83 adição de ânions como cloro e enxofre à dieta pré-parto, induz na vaca uma acidose  
84 metabólica que auxilia a reabsorção óssea e a absorção intestinal de cálcio (Horst *et al.*,  
85 1997), visto que o organismo tenta compensar a acidificação do pH sanguíneo  
86 aumentando os níveis de cálcio no sangue (Gaynor *et al.*, 1989). Assim, dietas ricas em  
87 ânions aumentam a reabsorção osteoclástica e a síntese de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  em vacas (Goff  
88 e Horst, 1981), os quais são controlados pelo PTH.

89 A resposta do organismo animal à adição de sais aniônicos à dieta é rapidamente  
90 perceptível. Em 48 horas após o início do fornecimento da dieta o pH sanguíneo já está  
91 levemente acidificado. Porém acredita-se que seja necessário de cinco a sete dias para  
92 que o efeito da redução do pH sanguíneo se manifeste nos mecanismos de homeostase  
93 do cálcio (Santos *et al.*, 2011), contudo nos sistemas produtivos o uso desta dieta é  
94 geralmente indicado durante no mínimo 21 dias.

95 Assim, a hipótese desse estudo é que vacas que recebem dieta aniônica por um  
96 período maior respondem mais rapidamente à diminuição do cálcio sanguíneo,  
97 demonstrando menos alterações em parâmetros bioquímicos, clínicos e hematológicos.

98 O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros clínicos, hematológicos e  
99 bioquímicos de novilhas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica submetidas a  
100 diferentes períodos de fornecimento de dieta aniônica.

101

## 102 MATERIAIS E MÉTODOS

103 O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira ao sul do Rio Grande  
104 do Sul, no município de Rio Grande, nas coordenadas geográficas 32 ° 16 'S, 52 ° 32' E.

105 Foram utilizadas 9 novilhas da raça Holandês, a partir de trinta dias pré-parto,  
106 com escore de condição corporal uniforme (ECC = 3) (Edmonson *et al.*, 1989),  
107 distribuídas aleatoriamente entre os grupos em sistema de criação semi-extensivo.

108 A análise bromatológica e mineral da pastagem e do concentrado fornecido para  
109 os diferentes grupos foi realizada pelo laboratório 3rLab (Minas Gerais, Brasil) (Tab. 1).

110 **Tab.1:** Ingredientes e composição nutricional da dieta pré-parto.

Ingredientes	Dieta total	Dieta total
	G0	G11 e G15
	%	%
Pastagem de Azevém	58,3	25
Concentrado <sup>1</sup>	-	41,6
Feno de Hemártria	41,6	33,3
<b>Composição Nutricional</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
MS	95,29	94,77
Proteína Bruta (PB)	12,55	15,96
Proteína solúvel %PB	29,10	29,10
PIDN %PB <sup>2</sup>	26,00	26,00
PIDA %PB <sup>3</sup>	13,55	13,55
FDN <sup>4</sup>	60,58	45,92
FDA <sup>5</sup>	41,46	30,87

Lignina	6,04	6,04
Lignina %FDN	9,30	9,30
Açúcares	6,88	6,88
Lipídeos	1,69	3,64
Cinzas	9,33	10,27
Cálcio	0,35	0,81
Fósforo	0,24	0,58
Potássio	1,45	1,40
Magnésio	0,26	0,41
Enxofre	0,23	0,45
<b>DCAD<sup>6</sup> (/100g MS)</b>	<b>+51,2</b>	<b>-41,40</b>

111 <sup>1</sup> Concentrado composto por 33,7% de Milho Moído, 28% de Farelo de Soja, 30% de Farelo de Arroz, 3,3% de Calcário, 4% de Sal

112 Aniônico e 1% de Premix Vitamínico.<sup>2</sup> PIDN %PB - Proteína insolúvel em detergente neutro relativa a % de proteína bruta

113 <sup>3</sup>PIDEA%PB - Proteína insolúvel em detergente ácido relativa a % de proteína bruta; <sup>4</sup>FDN - Fibra detergente neutra; <sup>5</sup>FDA - Fibra

114 detergente Ácida; <sup>6</sup>DCAD - Dieta cátio-aniônica.

115 Os animais foram divididos em 3 grupos de acordo com o fornecimento da dieta  
116 aniônica e todos grupos foram induzidos à hipocalcemia subclínica. O grupo G0 (n=3)  
117 não havia recebido a dieta aniônica no momento da indução. No grupo G11 (n=3)  
118 indução após 11 dias de dieta aniônica. O grupo G15 (n=3), novilhas que foram  
119 induzidas à hipocalcemia subclínica após 15 dias de dieta aniônica.

120 Para realização da indução de hipocalcemia todas as novilhas foram  
121 cateterizadas na veia marginal da orelha. Foi realizada tricotomia da orelha e assepsia  
122 local com solução de PVPI 2%. Posteriormente, o vaso foi puncionado utilizando um  
123 cateter intravenoso 20G x 12 (BD I-Cath<sup>tm</sup>, BD, 1Becton Drive, Franklin Lakes, NJ/  
124 USA). Os três grupos foram submetidos ao protocolo de indução de hipocalcemia  
125 subclínica pela infusão endovenosa de um produto quelante de cálcio (Jorgensen et al,  
126 1999) . A administração da solução foi mantida por um período de 6 horas.

127 As coletas de sangue foram realizadas por punção da veia coccígea, utilizando o  
128 sistema Vacutainer (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil) e foram iniciadas dois dias  
129 antes do protocolo de indução de hipocalcemia para avaliação do valor basal do cálcio

130 sanguíneo. No dia da indução foram coletadas amostras de sangue imediatamente antes  
131 do seu início (0h), 6 e 12 horas após o início, caracterizando o dia 0, posteriormente as  
132 coletas foram realizadas nos dias 1, 2 e 3 a partir da indução. A seguir, o sangue foi  
133 submetido à centrifugação a 1800xg para obtenção de plasma e soro, as quais foram  
134 identificadas e congeladas a -70 °C.

135 O sangue foi coletado em um tubo contendo EDTA 10% (5mL) para realização  
136 de leucograma, proteínas totais (PPT) e fibrinogênio e outro sem anticoagulante (10mL)  
137 para análise bioquímica, sendo determinados os parâmetros de cálcio total, magnésio e  
138 albumina.

139 Os níveis séricos de cálcio total, albumina e magnésio foram analisados por  
140 colorimetria utilizando kits enzimáticos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Para a  
141 leitura, foi usado o espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 700*Plus*, FEMTO  
142 Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil). Foi utilizada a seguinte  
143 fórmula ( $iCa = 6x Ca - [(0,19xPPT) + Alb/3] / [(0,19xPPT) + Alb + 6]$ ) para determinar o valor  
144 estimado de cálcio ionizado (iCa) (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil, Ref 90).

145 Foi realizado exame clínico nos animais antes de iniciar o protocolo de indução  
146 à hipocalcemia subclínica e logo após o fim da indução (0 e 6 horas). Considerou-se  
147 frequência cardíaca (FC), respiratória (FR), temperatura (T°), movimentos ruminais  
148 (MR), tempo de preenchimento capilar (TPC), desidratação e coloração de mucosas.

149 Para realização da análise estatística dos dados obtidos utilizou-se o programa  
150 Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Foi utilizada análise de  
151 variância com Mixed Model para comparação dos grupos, coletas e sua interação (grupo  
152 x coleta) através do teste de TukeyHSD ( $P < 0,05$ ).

153 Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da  
154 Universidade Federal de Pelotas (Cod.0388).

155

## 156 **RESULTADOS**

157 Dos parâmetros bioquímicos avaliados (Tab. 2) houve diferença nos valores de  
158 cálcio total entre os grupos durante todo período ( $P < 0,01$ ), sendo o G11 foi maior que  
159 G0 e G15. O cálcio ionizado também foi diferente entre os grupos ( $P < 0,01$ ). O G11 foi  
160 maior que G0 e igual ao G15. Na interação grupos x dias ( $P = 0,01$ ) o G11 foi maior que  
161 G0 e G15 nos dias 0, 1 e 3 (Fig. 1).

162 Na Fig. 2 observa-se a diferença entre os grupos em relação aos valores de  
163 Magnésio sanguíneo ( $P < 0,01$ ). Houve diferença entre os grupos G0 e G15 no dia -2,  
164 0,1, e 3, sendo G15 maior em todos os períodos; e entre os grupos G0 e G11 nos dias 1  
165 e 3 ( $P < 0,05$ ), sendo G11 maior nos dois dias. Os valores de magnésio nos grupos G0 e  
166 G15 tiveram uma redução similar durante o período de avaliação, enquanto que G11 se  
167 manteve constante. A albumina não apresentou diferença entre grupos ou coletas  
168 durante o período experimental (Tab. 2).

169 No leucograma foi possível observar que o G0 e o G15 tiveram maior  
170 porcentagem de neutrófilos (Fig. 2) no segundo dia pós hipocalcemia subclínica quando  
171 comparados ao G11 ( $P < 0,01$ ). Houve diferença nos valores de monócitos e bastonetes  
172 entre os grupos durante todo período ( $P < 0,01$ ), sendo o G0 maior que G11 e G15  
173 durante a avaliação. Não houve diferença nos valores de fibrinogênio, leucócitos totais,  
174 linfócitos e eosinófilos entre os grupos e entre os períodos (Tab. 2).

175 **Tab. 2:** Parâmetros bioquímicos e hematológicos (média  $\pm$  erro padrão da média)  
 176 avaliados em novilhas pré-partoinduzidas à hipocalcemia subclínica recebendo dieta  
 177 aniônica por diferentes períodos.

Parâmetro	G0	G11	G15	Valor de P		
				Grupo	Dia	Grupo x Dia
<b>Bioquímico</b>						
Albumina (mg/dL)	2,54 (0,13)	2,68 (0,14)	2,98 (0,13)	0,13	0,31	0,43
Cálcio Total (mg/dL)	8,69 <sup>b</sup> (0,19)	9,97 <sup>a</sup> (0,20)	9,28 <sup>b</sup> (0,18)	<0,01	<0,01	0,36
Cálcio ionizado (mg/dL)	4,94 <sup>b</sup> (0,14)	5,99 <sup>a</sup> (0,15)	5,11 <sup>ab</sup> (0,14)	<0,01	<0,01	0,01
Magnésio (mg/dL)	1,73 <sup>c</sup> (0,05)	1,93 <sup>b</sup> (0,06)	2,41 <sup>a</sup> (0,05)	<0,01	<0,01	0,03
<b>Hematológicos</b>						
Bastonetes (%)	3,20 <sup>a</sup> (0,30)	1,70 <sup>b</sup> (0,35)	1,97 <sup>b</sup> (0,29)	<0,01	0,57	0,16
Eosinófilos ( $\mu$ L)	8,74 (1,92)	9,36 (2,02)	8,08 (1,89)	0,89	0,64	0,06
Fibrinogênio (mg/dL)	650 (69,9)	450 (84,5)	555 (69,9)	0,34	0,95	0,29
Leucócitos Totais ( $\mu$ L)	12,67 (1,77)	12,60 (1,83)	10,60 (1,77)	0,66	0,05	0,96
Linfócitos ( $\mu$ L)	4,88 (4,27)	4,97 (4,46)	4,97 (4,20)	0,98	0,02	0,11
Monócitos(%)	3,87 <sup>a</sup> (0,43)	2,51 <sup>b</sup> (0,49)	1,63 <sup>b</sup> (0,40)	<0,01	0,45	0,46
Neutrófilos(%)	36,1 (3,64)	36,4 (3,83)	38,5 (3,58)	0,87	<0,01	<0,01
Proteínas Totais (g/dL)	7,32 <sup>a</sup> (0,13)	6,81 <sup>b</sup> (0,18)	6,54 <sup>b</sup> (0,13)	<0,01	0,15	0,24

178 <sup>abc</sup> Diferem entre si na mesma linha.

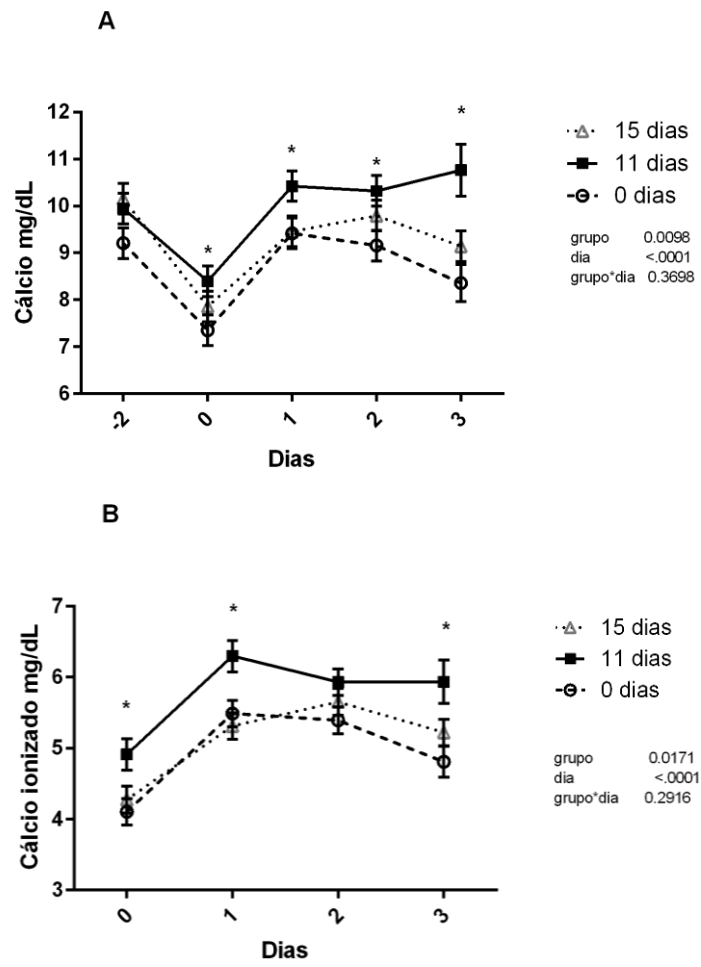
179 G0 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica  
 180 G11 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta  
 181 aniônica há 11 dias.  
 182 G15, animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15  
 183 dias.  
 184

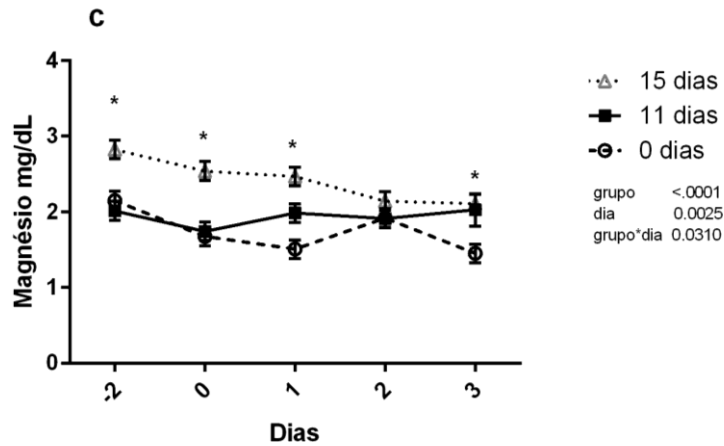
185 O exame clínico realizado nos animais antes e depois da indução à hipocalcemia  
 186 apresentou diferença nos parâmetros de temperatura retal. O G0 foi maior durante o  
 187 período avaliado, como mostra a Tab. 3. Na avaliação de coloração de mucosa,  
 188 desidratação e TPC (tempo de preenchimento capilar) todos animais apresentaram os  
 189 mesmos parâmetros fisiológicos, sendo mucosa rósea, sem presença de desidratação e  
 190 TPC normal.

191 **Tab. 3:** Parâmetros clínicos (média ± erro padrão da média) avaliados em novilhas pré-  
 192 parto induzidas à hipocalcemia subclínica recebendo dieta aniônica por diferentes  
 193 períodos.

Parâmetro	G0	G11	G15	Valor de P		
				Grupo	Dia	Grupo x Dia
Frequência Cardíaca (bpm)	81 (2,8)	80 (2,8)	73 (2,8)	0,12	0,19	0,20
Frequência Respiratória (mpm)	28 (4,2)	35 (4,2)	32 (4,2)	0,51	0,62	0,34
Movimentos Ruminais (/2min)	1 (0,1)	2 (0,1)	1 (0,1)	0,29	0,50	0,09
Temperatura retal	38,0 (0,1)	38,6 (0,1)	38,4 (0,1)	0,04	0,64	0,14

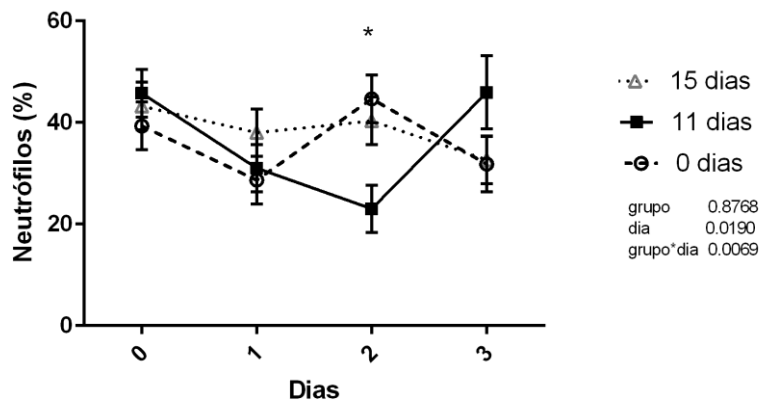
194 G0 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica  
 195 G11 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias.  
 196 G15 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15 dias.





197 **Fig. 1:** Níveis de cálcio total, ionizado e magnésio (mg/dL) de novilhas leiteiras  
 198 induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de suplementação  
 199 de dieta aniônica.

200 A - Valores de cálcio total (mg/dL) durante todo período experimental. B - Valores de cálcio ionizado  
 201 (mg/dL) durante todo período experimental. C - Valores de Mg sanguíneo (mg/dL) durante todo período  
 202 experimental.\* Diferença estatística entre grupos x dia (P<0,05).



203

204 **Fig.2:** Porcentagem de neutrófilos segmentados de novilhas leiteiras induzidas à  
 205 hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de suplementação de dieta  
 206 aniônica.

207 \* Diferença estatística entre grupos x dia (P<0,05).



## 208 **DISCUSSÃO**

209 O estudo demonstrou que o grupo que recebeu a dieta por 11 dias apresentou os  
210 melhores resultados para os parâmetros avaliados. Em relação ao cálcio total e ionizado,  
211 o G11 apresentou níveis mais elevados quando comparado aos outros dois grupos.

212 A dieta aniônica fornecida de três a quatro semanas antes do parto pode trazer  
213 benefícios ao metabolismo do cálcio e a saúde da vaca antes e depois do parto, assim  
214 como no desempenho produtivo e reprodutivo (Moore *et al*, 2000). Neste estudo foi  
215 possível observar que com apenas 11 dias de fornecimento de dieta as vacas  
216 conseguiram adaptar o organismo à queda de cálcio, recuperando-se da hipocalcemia  
217 subclínica. Os valores de cálcio total e ionizado nesse grupo foram maiores em todo  
218 período comparado aos animais que não recebiam a dieta. Esse resultado já era previsto  
219 uma vez que o objetivo da dieta aniônica é auxiliar na mobilização do cálcio para  
220 prevenção da hipocalcemia.

221 Weich (2013) avaliou o comportamento pós-parto de vacas que receberam dieta  
222 aniônica 42 e 21 dias antes do parto. Em seu estudo, os dois períodos de suplementação  
223 se comportaram da mesma forma no pós-parto e não foram eficientes em prevenir a  
224 hipocalcemia subclínica. Contribuindo com os resultados encontrados por Weich  
225 (2013), o G11 apresentou maiores níveis de cálcio quando comparado ao G15,  
226 demonstrando que um período de apenas 11 dias é suficiente para serem obtidos os  
227 efeitos da dieta aniônica sobre o metabolismo do cálcio, enquanto com 15 dias de dieta  
228 este efeito já não é observado.

229 Esse resultado pode indicar que a acidificação prolongada do pH sanguíneo e  
230 por consequência do pH intracelular pode reduzir a concentração de cálcio na célula,  
231 como demonstrado por Fernandez (2005) em um estudo que avaliou pH intracelular de

232 camundongos. Este resultado é de suma importância, já que a diminuição do cálcio  
233 intracelular reduz a funcionalidade da célula (Kimura, et al., 2006).

234 Os valores de magnésio também diferiram entre os grupos. O G15, mesmo  
235 apresentando valores de Mg maiores, teve uma queda de 26% em seus níveis  
236 sanguíneos ao longo do período avaliado, similar ao G0, com queda de 33%, enquanto  
237 que o G11 manteve-se constante durante todo período, variando menos de 1%,  
238 possivelmente devido ao PTH ativo que conseguiu manter sua absorção a nível renal  
239 durante a queda do cálcio (Goff, 2014). A hipomagnesemia influencia diretamente na  
240 sensibilidade dos tecidos ao PTH e na secreção do mesmo frente a uma queda de cálcio,  
241 pois o magnésio é um cofator na ativação do AMP cíclico, o mensageiro celular que  
242 sinaliza a queda de cálcio no sangue (Goff, 2014).

243 Quanto aos parâmetros hematológicos foi observada diferença entre os grupos  
244 nos valores de monócitos, sendo que o G0 apresentou valores maiores principalmente  
245 após o cálcio já ter se restabelecido, que pode ser justificado devido ao monócito  
246 auxiliar na reabsorção óssea através do estímulo da secreção de citocinas como  
247 interleucina (IL) 1 e 6 e indiretamente IL 11 e IL 17, que são responsáveis pelo  
248 desenvolvimento e reparação óssea (Dong e Wein, 2013). Martinez et al. (2014) não  
249 observou diferença na porcentagem de leucócitos, monócitos, linfócitos e neutrófilos  
250 nos animais do seu estudo, mas observou diferença na atividade fagocítica dos  
251 neutrófilos, a qual não foi avaliada nesse estudo.

252 Com relação aos sinais clínicos, o menor valor da temperatura retal no G0,  
253 quando comparado aos outros dois grupos, pode ser explicado neste estudo pela queda  
254 de cálcio temporária ter reduzido sua função como cofator enzimático causando

255 alterações na homeostase térmica. Esse resultado não foi encontrado por Martinez et al  
256 (2014).

257 O uso da dieta aniônica é geralmente é recomendado durante todo período pré-  
258 parto, que representa ao produtor um custo elevado, mesmo diante dos benefícios que  
259 ela gera. Nesse estudo o uso de dieta aniônica por onze dias se mostrou eficiente na  
260 adaptação do organismo ao sistema de homeostase do cálcio, sugerindo que seu uso  
261 poderia ser reduzido, mantendo sua eficiência, reduzindo os danos celulares e  
262 diminuindo o custo para o produtor.

263

## 264 **CONCLUSÃO**

265 Concluimos que o tempo de fornecimento da dieta aniônica por onze dias foi  
266 suficiente para manter a homeostase do cálcio, a manutenção do magnésio e a resposta  
267 leucocitária em novilhas desafiadas a uma diminuição do cálcio sanguíneo.

268

## 269 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

270

271 BROZOS, C.; MAVROGIANNI, V.S.; FTHENAKIS, G.C. Treatment and control of  
272 peri-parturient metabolic diseases: pregnancy toxemias, hypocalcemia, hypomagnesemia.  
273 *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, vol. 27, p. 105-113, 2011.

274

275 CHAPINAL, N.; CARSON, M.E.; DUFFIELD, T.F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.;  
276 OVERTON, M.; SANTOS, J.E.P.; LEBLANC, S.J. The association of serum  
277 metabolites with clinical disease during the transition period. *J. Dairy Sci.*, v. 94, p.  
278 489-4903, 2011.

279

280 DONG L. & WEIN C. Harnessing the power of macrophages/monocytes for enhanced  
281 bone tissue engineering. *Trends Biotechnol.*, v. 31, n. 6, 2013.

282

283 EDMONSON, A. J. LEAN, I. J.; WEAVER, L. D. et al. A Body Condition Scoring  
284 Chart For Holstein Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, v. 72, n.1, 1989.

285

286 FERNANDEZ, R.; GIEBISCH, G.; GEIBEL, J.P. Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  modulates  
287  $\text{H}^+$  ATPase activity in intercalated cells from mouse cortical collecting duct (CCD).  
288 *FASEB Journal*, v. 19, p.139, 2005.  
289  
290 GAYNOR, P.J.; MUELLER, F.J.; MILLER, J.K. Parturient hypocalcemia in Jersey  
291 cows fed alfalfa haylage-based diets with different cation to anion ratios. *J. Dairy*  
292 *Sci.*, v. 72, n.10, p.2525-2531, 1989  
293  
294 GOFF, J.P.; HORST, R.L. Addition Of Chloride To A Prepartal Diet High In Cations  
295 Increases 1,25-Dihydroxyvitamin D Response To Hypocalcemia Preventing Milk  
296 Fever. *J. Dairy Sci.*, v.74, p.3863-3871, 1981.  
297  
298 GOFF, J.P. The Monitoring, Prevention, And Treatment Of Milk Fever And Subclinical  
299 Hypocalcemia In Dairy Cows. *The Veterinary Journal*, v.176, p.50-57, 2008.  
300  
301 GOFF, J.P. Calcium and Magnesium Disorders. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*,  
302 v. 30, p. 359–381, 2014.  
303  
304 HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; BUXTON, D.R. Strategies for  
305 preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* *J. Dairy Sci.*, v.80, p.1269-1280,  
306 1997.  
307  
308 JORGENSEN, R.J., NYENGAARD, N.R., DANIEL, R.C.W., et al. Induced  
309 hypocalcaemia by  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  infusion: a review. *J. Vet. Med. A* 46, 389–497, 1999.  
310  
311 KARA, C. Physiological and metabolic changes during the transition period and the use  
312 of calcium propionate for prevention or treatment of hypocalcemia and ketosis in  
313 periparturient cows. *J. Biol. Environ. Sci.*, v. 7, p. 9-17, 2013.  
314  
315 KIMURA, K.; REINHARDT, T.A.; GOFF, J.P. Parturition and hypocalcemia blunts  
316 calcium signal in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 2588-2595, 2006.  
317  
318 LEAN, I.J.; DEGARIS, P.J.; MCNEIL, D.M.; BLOCK, E. Hypocalcemia in dairy cows:  
319 meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p.  
320 669-684, 2006.  
321  
322 MARTINEZ, N.; RISCO, C.A.; LIMA, F.S. et al. Evaluation of peripartal calcium  
323 status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of  
324 developing uterine disease. *J. Dairy Sci.*, v. 95, p. 7158-772. 2012.  
325

- 326 MARTINEZ N.; SINEDINO L. D. P.; BISINOTTO R. S., et al. Effect of induced  
327 subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy  
328 cows. *J. Dairy Sci.* .V 97 p.874–887, 2014.  
329
- 330 MELENDEZ, P.; DONOVAN, G.A.; RISCO, C.A., et al. Effect of calcium-energy  
331 supplements on calving-related disorders, fertility and milk yield during the transition  
332 period in cows fed anionic diets. *Theriogenology*. V.60, p.843-854, 2003.  
333
- 334 MOORE, S. J., VANDEHAAR, M. J.; SHARMA, B. K.; PILBEAM, T. E., et al. Effects  
335 of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in  
336 peripartum cows. *J. Dairy Sci.* V. 83 p.2095–2104, 2000.  
337
- 338 SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. *In*: Berchielli T.T., Pires A.V. & Oliveira S.G.  
339 (Eds), *Nutrição de Ruminantes*. 2<sup>a</sup> ed. Funep, Jaboticabal, p.439-450, 2011.  
340
- 341 WEICH, W.; BLOCK, E.; LITHERLAND, N.B. Extended negative dietary cation-  
342 anion difference feeding does not negatively affect postpartum performance of  
343 multiparous dairy cows. *J. Dairy Sci.* v. 96, p 5780-5792, 2013.

## **5. Considerações Finais**

A residência foi de grande valia para meu crescimento profissional e pessoal. Profissionalmente consegui alcançar meus objetivos de crescer tecnicamente além de ter segurança e habilidade frente a um desafio. Pessoalmente foi possível aprimorar o conceito de trabalhar com pessoas. Além de que, neste período adquiri maior confiança em meu trabalho e responsabilidade com meus pacientes e seus proprietários. Espero que no futuro, a Medicina Veterinária possa se inserir no campo de Saúde da Família para que possamos, como Médicos Veterinários, auxiliar de alguma forma a melhoria da condição de vida de muitas famílias através do conhecimento e experiência adquiridos nesse período de especialização.

## 6. Referências Bibliográficas

GOFF, J.P & HORST, R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.7, p.1260 - 1268, 1997.

GRUMER, R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v.73, n.9, p. 2820 – 2833, 1995.

HORST, R.L.; GOFF, J.P; REINHARDT, T.A; BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.7, p.1269 – 1280, 1997.

LEBLANC, S. J.; KLISSEMORE, D.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K. E. 2006. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1267–1279, 2006.

MARTINEZ, N; RISCO, C.A; LIMA, F.S; BISINOTTO, R.S; GRECO, L.F; RIBEIRO, E.S; MAUNSELL, F; GALVÃO, K; SANTOS, J.E.P. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.12, p.7158 – 7172, 2012.

REINHARDT, T.A; LIPPOLIS, D.J; MCCLUSKEY, B.J; GOFF, J.P; HORST, R.L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v.188, n.1, p.122 – 124, 2011.

USDA. Foreign Agricultural Service. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>. Acesso em 04/01/2015.

VIANA, J. G. A. **Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil**. Revista Ovinos, Ano 4, N° 12. Porto Alegre - Março de 2008. Acesso em 12/01/2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos>

WILKENS, M.R; OBERHEIDE, I; SCHRODER, B; AZEM, E; STEINBERG, W; BREVES, G. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and a diet

negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows.  
**Journal of Dairy Science**, v.95, n.1, p.151 – 164, 2012.



## 6. ANEXO 1 - PROJETO DE PESQUISA

### Avaliação da qualidade da água na dieta de bovinos leiteiros e a sua importância na ocorrência de doenças: Hipocalcemia e Leptospirose

#### 3.1 Caracterização do problema

A água é o nutriente mais importante para produção de lácteos, por mais que muitas vezes seja deixada em segundo plano. Na nutrição de vacas leiteiras é o alimento de maior requisição quantitativa, pois o leite contém, em média, 87% de água na sua composição. Além disso, o conteúdo corporal de bovinos adultos é composto por 55 a 70% de água, que pode chegar de 80 a 85% em animais jovens e até 90% nos recém-nascidos (MEYER *et al*, 2004).

As fontes de água para o organismo animal se dão de três formas, a primeira é pelo consumo na sua forma *in natura*, a segunda pela ingestão de alimentos e a terceira pela oxidação metabólica, a última com menos relevância (NRC, 2001). A restrição de água devido a baixa disponibilidade ou qualidade, pode reduzir a ingestão de matéria seca (IMS) prejudicando a produção leiteira (KUME *et al*, 2010). Ainda, vacas leiteiras consomem cerca de 40% a 50% das exigências diárias de água na primeira hora após deixarem a sala de ordenha, sendo então o manejo um importante fator no consumo de água (CAMPOS, 2006).

Frequentemente, patógenos são transmitidos aos animais através de fontes de água potável contaminada, sendo o risco de contaminação maior em águas superficiais (açudes, lagos e rios) que são as fontes mais utilizadas em sistemas extensivos. Desta forma, a oferta de água de boa qualidade é fundamental para a sanidade, bem estar e desempenho dos animais. Em termos sanitários, os patógenos de maior importância no abastecimento de água para os animais incluem as bactérias entéricas, *Leptospiraspp*, *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomalleie* *Clostridium botulinum* (SANTOS, 2010).

A leptospirose é uma zoonose cosmopolita, de origem bacteriana. Atinge animais domésticos, silvestres e acidentalmente o homem, sendo de grande importância na saúde pública. No setor pecuário a leptospirose é responsável por perdas econômicas significativas. Em vacas leiteiras, afeta negativamente o

desempenho reprodutivo, causando aborto, natimortos, nascimento de animais debilitados e infertilidade. Na produção pode interferir nas características macroscópicas do leite e ocasionar mastite clínica ou subclínica com conseqüente diminuição da produção de leite; além dos sinais clínicos que deprimem o animal, podendo o levar a morte (CHIARELLI *et al*, 2012).

A infecção resulta da exposição direta ou indireta à urina de animais infectados, contato com água e lama contaminadas, contato com sangue, tecidos e órgãos de animais infectados, transmissão acidental em laboratórios e ingestão de água ou alimentos contaminados. A penetração do microrganismo ocorre através da pele com presença de lesões, da pele íntegra imersa por longos períodos em água contaminada ou através de mucosas. Os solos alcalinos, clima quente e úmido, pastos alagados favorecem a disseminação do agente (ADORNO, 2006).

Outro fator que influencia na qualidade da água são os solutos que ela carrega durante o seu trajeto até o bebedouro. Por onde passa, a água adquire as características do solo, ou seja, dissolve minerais, nutrientes ou contaminantes que lá se encontram (ERON *et al*, 2013). Assim, a qualidade da água pode interferir em diversas funções fisiológicas do animal, como fermentação e metabolismo ruminal, fluxo do alimento através do trato digestório, digestão e absorção dos nutrientes, volume de sangue e irrigação de todos os tecidos (IEPEC, 2008).

Geralmente, a água dura não afeta vacas leiteiras de forma significativa, contudo, é recomendável considerar o consumo de cálcio e magnésio na formulação da dieta caso os níveis destes minerais na água encontrem-se acima de 500 e 125 ppm, respectivamente, poderá estar influenciando no equilíbrio catiónico-aniónico da dieta, o qual é um importante fator no controle de doenças metabólicas relacionadas a distúrbios minerais como a hipocalcemia (ADAMS & SHARPE, 2006).

A hipocalcemia é uma doença metabólica que afeta vacas de alta produção de leite no pós-parto e início de lactação devido ao rápido declínio das concentrações de cálcio total e ionizado no sangue. Essa queda se dá por uma falha na homeostase do Ca no início da lactação, o que ocorre por diminuição da absorção intestinal, reabsorção renal e desmineralização óssea (GOFF, 2007)

Vacas que recebem uma dieta rica em cálcio no terço final da gestação tem o hormônio calcitonina elevado, com isso os mecanismos que previnem a hipocalcemia ficam inibidos. Este pode ser um dos fatores responsáveis pela baixa capacidade dos níveis elevados de paratormônio(PTH) de mobilizar cálcio das reservas ósseas com a rapidez necessária para suprir as exigências do parto (GOFF, 2007)

Dietas alcalinas (excesso de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) deixam as vacas mais suscetíveis à hipocalcemia, pois o desbalanceamento de ânions na dieta causa uma mudança na conformação do receptor do PTH, reduzindo sua atividade nos tecidos alvo (ABREU, 2006). Dietas pobres em Magnésio diminuem a absorção de Ca intestinal, pois, tem efeito direto no metabolismo ósseo, estimulando a secreção de calcitonina (BELLUCI, 2008). Já o Fósforo, quando em excesso (>80g/dia) inibe a produção de 1 $\alpha$  - hidroxilase no rim, conseqüentemente a redução de 1, 25 - DHC e portanto a reabsorção de Ca intestinal (GOFF, 2004).

Assim, para estimar a quantidade de minerais que uma vaca ingere seria necessário calcular não só as quantidades de mineral fornecidas na dieta mas também as quantidades existentes na água. A sobrecarga mineral fornecida para um animal pode não causar problemas à sua saúde e desempenho, porém interfere nos custos de produção e ainda é prejudicial para o meio ambiente (CASTILLO *et al*, 2012).

Portanto, a concentração de minerais como Ca, Mg, P, K e Na na água são importantes para conseguir quantificar o total/dia ingerido por uma vaca no período pré-parto quando já se conhece as concentrações dos mesmos na dieta sólida.

## **Objetivos e Metas**

### **Objetivo:**

O objetivo do trabalho é avaliar a qualidade da água fornecida aos animais, relacionando-a com a dieta de bovinos leiteiros e a transmissão de doenças.

### **Metas:**



Serão coletadas uma amostra de urina e uma de sangue de 20% dos animais de cada propriedade. Serão coletados 80 mL de urina de cada animal por micção espontânea com massagem para estimulação. As amostras de urina serão processadas em laboratório para isolamento da *Leptospirospp* pela técnica de imunofluorescência. As coletas de sangue serão realizadas por punção venosa da veia coccígea por sistema Vacutainer®, coletando 9mL de sangue de cada animal para realização de sorologia em busca de anticorpos para *Leptospira spp*.

Serão coletadas também amostras de água (em torno de 100ml) de cada propriedade. As amostras serão coletadas de caixas d'água, cochos de água, riachos, poças e todos os outros possíveis pontos de consumo de água. A água será processada em laboratório para análise de qualidade, compreendendo coliformes totais, fecais e presença de *Leptospira spp*.

## **Experimento 2**

O segundo experimento será realizado em uma propriedade leiteira ao sul do Rio Grande do Sul, no município de Rio Grande, nas coordenadas geográficas 32 ° 16 'S, 52 ° 32' E.

Serão utilizadas vacas da raça Holandesa, durante o período pré-parto. Serão 40 vacas, sendo 20 do grupo controle (sem dieta Ca tio) e 20 do grupo tratamento (com dieta catio-aniônica).

Será coletada uma amostra de sangue (9mL) de cada animal, semanalmente durante o período - 7dias a 15 dias pós-parto, para avaliação de Cálcio Total e Ionizado (iCa), Magnésio (Mg), Sódio (Na), Potássio (K), Cloro (Cl) e creatinina que serão analisados por colorimetria utilizando kits enzimáticos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Para a leitura, será usado o espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 700Plus, FEMTO Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil).

Também será coletada uma amostra de urina (80 mL) de cada animal, semanalmente, para avaliação catio-aniônica. A urina será coletada por micção espontânea com massagem para estimulação. As amostras serão congeladas a -

10°C para posterior análise. A análise dos minerais será realizada por método colorimétrico (Labtest Diagnóstica) e a quantidade de urina produzida por dia será estimada através do cálculo de excreção fracionada (EF) (ROEDER *et al*, 1997), ou seja:  $(Uca/Sua) \times (Criar/Ócrea) \times 100$  e  $(Um/SM) \times (Criar/Ócrea) \times 100$ , onde U e S significam urina e soro respectivamente. A EF representa a porcentagem de depuração de uma substância em porcentagem à depuração de creatinina.

Além disso será realizada análise bromatológica e mineral da pastagem e do concentrado fornecido, também semanalmente, juntamente com a análise da água. A análise bromatológica será realizada pelo método de Weende (1984). É conhecido como método de análise centesimal ou proximal e consiste basicamente nas determinações de matéria seca, gorduras ou extrato etéreo, energia disponível em Kcal, fibra bruta, proteína bruta, resíduo mineral ou cinzas, extrato não nitrogenado (ENN), cálcio, fósforo e nutrientes digestíveis totais. Para a determinação das variantes da Fibra em Detergente Neutro (FDN) e da Fibra em Detergente Ácido (FDA) será utilizado o método de Van Soeste Wine (1967). Os minerais serão avaliados por espectrofotometria pelo método de Markset *et al* (1972).

A análise da água será realizada através fotocolorimetria, utilizando kits comerciais de análise mineral, Polikit para balanço iônico (Alfakit®). Para avaliação da qualidade mineral da água, serão coletadas amostras provenientes de todas as fontes de água da fazenda.

Para realização da análise estatística dos dados obtidos será utilizado o programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Será utilizada análise de variância com medidas repetidas para comparação dos grupos, coletas e sua interação (grupo x coleta) através do teste de Tukey HSD ( $P < 0,05$ ). Médias pontuais serão analisadas por One Way ANOVA.

## **Resultados e Impactos esperados**

### **Indicadores de Progresso ao final de cada 6 meses de projeto:**

Serão publicados resumos em congressos da área descrevendo os resultados parciais obtidos nos experimentos.

### **Indicadores de resultados ao final do projeto:**

- Produzir um Trabalho de Conclusão de Residência e uma dissertação de Mestrado.
- Publicar pelo menos 2 artigos em revistas de circulação nacional ou

internacional, com boa classificação no “Sistema de Classificação de Periódicos, Anais e Revistas” da CAPES, além de uma revisão bibliográfica sobre a temática proposta neste projeto.

- Divulgar os resultados em congressos da área em âmbito nacional.
- Divulgar os resultados em congressos da área em âmbito local e regional, tais como Congressos de Iniciação Científica e Encontros de Pós-graduação.

### **Repercussão e/ou impactos dos resultados:**

Acreditamos que a qualidade da água influencia a condição sanitária em rebanhos de bovinos leiteiros, por ser uma forma de transmissão de doenças infecciosas além de interferir no equilíbrio catio-aniônico, sendo de grande importância para a manutenção da saúde do rebanho.

### **Referências Bibliográficas**

ABREU, G.J.T. **Causas e resolução de paresia puerperal, corpo lúteo persistente e cesariana.** Monografia [Especialização]. Universidade Castelo Branco, Piracicaba, SP. 2006.

ADAMS, R.S.; SHARPE, W,E. 2006. Water intake and quality for dairy cattle. **Dairy and Animal Science.** The Pennsylvania State University.

ADORNO, O.J.C. **Leptospirose Bovina.** Monografia [Especialização]. Universidade Castelo Branco, Piracicaba, SP. 2006.

BELLUCI, M. M. **Efeito da Deficiência de Magnésio na Dieta Sobre a Densidade e o Metabolismo Ósseo ao Redor de Implantes com Osseointegração Estabelecida. Estudo em Ratos.** Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia UNESP; 2008.

CAMPOS, A.T. **EMBRAPA Gado de Leite.** Importância da água para bovinos de leite. Instrução Técnica para o Produtor de Leite. Março, 2006. Disponível em

<<http://www.cileite.com.br/sites/default/files/31Instrucao.pdf>>. Acessado em 20/11/2013.

CASTILLO, A.R.; ST-PIERRE, S.T.; RIO, N.S. del; WEISS, W.P. 2012. Mineral concentrations in diets, water, and milk and their value in estimating on-farm excretion of manure minerals in lactating dairy cows. **Jornal of Dairy Science**. v. 96 p.3388–3398.

CHIARELI, D.; COSATE, M.R.V.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C.; LOBATO, F.C.F.; SILVA, J.A.; TEIXEIRA, J.F.B; MARCELINO, A.P. 2012. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autóctone em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**v. 32(7) p. 633-639.

ELROD, C.C.; CASTILLO, A.R.; WEISS, W.P. 2013. Hey! What's that in my drink? New considerations on drinking water quality for dairy cattle.**Vi-COR, Inc.** University of California Cooperative Extension and Ohio StateUniversity.

GOFF, J.P. 2004. Macromineral disorders of the transition cow. **Vet Clin Food Anim**. v.20 p.471–494.

GOFF, J.P. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows.**The Veterinary Journal**.v.176 p. 50–57.

IEPEC. A importância da qualidade da água para vacas leiteiras. Agosto de 2008. Disponível em: <<http://gadoleiteiro.iepec.com/noticia/a-importancia-da-qualidade-da-agua-para-vacas-leiteiras>>. Acessado em 29/11/2013

NRC. 2001. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

ROEDER, B. L.; SU, C. L.; SCHAALJE, G. B. Acute effects of intravenously administered hypertonic saline solution on transruminant rehydration in dairy cows. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 5, p. 549-554, 1997.

SANTOS, J.L. 2010.A Importância da Qualidade da Água na Pecuária de Leite.Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-pecuaria-corte/administracao/artigos/qualidade-da-agua-pecuaria-de-leite-t361/124-p0.htm>>.Acessado em 17/11/2013.



VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. **IV Determination of plant cell-wall constituents**, 1967.