



**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: Profª. 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 amizades 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 consequentemente da produção e desenvolvimento da atividade no país (VIANA, 2008).

A pecuária bovina é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e consequentemente 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 consequentemente 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 maisprejuízos.

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 (WILKENSEt 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 Raimundo e Beatriz Riet Correa Rivero, o prof. Marcio Nunes Corrêa e a tutora profª. 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 bezerros. 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, ovinos 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
Laminites	1	1	0	-	0,20
Parto distóxico	1	-	-	1	0,20
TOTAL	419				100%

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, vermiculização 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 orquiecomizados.

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
TOTAL	84				100%

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	%
Orquiecomia	15	10	5	45,4
Cesariana	4	3	1	12,1
Deslocamento de abomasos	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	6,06
Correção de Prolapso de vagina	1	1	3,03
TOTAL	33		100%

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

Casuística Granjas 4 Irmãos	Nº de avaliações	%
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
TOTAL	646	100%

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

Casuística Granjas 4 Irmãos	Nº de animais	%
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
TOTAL	26	100%

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.

Procedimento	Nº de animais	%
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%
TOTAL	10841	100%

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 consequentemente 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.

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

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

Procedimento	Nº de animais	%
Brincagem	240	27,59%
Vacinação	240	27,59%
Vermifragação	240	27,59%
Mochamento	150	17,24%
TOTAL	870	100%

2.2.3 Manejo sanitário

Na granja, alem 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), diarréia viral bovina (BVD), parainfluenza tipo 3 (PI3), vírus sincicial respiratório bovino (BRSV), leptospirose, clostrídioses e mastite.

3. ARTIGO

Formatado segundo a revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Influência da dieta aniônica sobre os parâmetros clínicos, hematológicos e químicos de novilhas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica no pré-parto

Influence of anionic diet on clinical, haematological and biochemical parameters of dairy heifers induced to subclinical hypocalcemia on prepartum

Camila Pizoni^{1*}, Josiane de Oliveira Feijó¹, Rubens Alves Pereira¹, Marcio Nunes

Corrêa¹, Cassio Cassal Brauner¹, Francisco Augusto Burkert Del Pino¹, Viviane Rohrig

Rabassa¹

¹ Universidade Federal de Pelotas

camila.pizonivet@gmail.com.br

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 ($1,25(OH)_2D_3$) 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 aniónicos 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 aniónicos 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 ¹	-	41,6
Feno de Hemártria	41,6	33,3
Composição Nutricional	%	%
MS	95,29	94,77
Proteína Bruta (PB)	12,55	15,96
Proteína solúvel %PB	29,10	29,10
PIDN %PB ²	26,00	26,00
PIDA %PB ³	13,55	13,55
FDN ⁴	60,58	45,92
FDA ⁵	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
DCAD⁶ (/100g MS)	+51,2	-41,40

¹ 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

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

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

detergente Ácida; ⁶DCAD - Dieta cátio-aniônica.

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

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 punctionado utilizando um
123 cateter intravenoso 20G x 12 (BD I-Cathtm, 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 700Plus, FEMTO
142 Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil). Foi utilizada a seguinte
143 fórmula ($i\text{Ca} = 6 \times \text{Ca} - [(0,19 \times \text{PPT}) + \text{Alb}/3]/(0,19 \times \text{PPT}) + \text{Alb} + 6$) para determinar o valor
144 estimado de cálcio ionizado ($i\text{Ca}$) (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 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 ± erro padrão da média)
 176 avaliados em novilhas pré-partoinduzidas à hipocalcemia subclínica recebendo dieta
 177 aniónica por diferentes períodos.

Parâmetro	G0	G11	G15	Valor de P		
				Grupo	Dia	Grupo x Dia
Bioquímico						
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 ^b (0,19)	9,97 ^a (0,20)	9,28 ^b (0,18)	<0,01	<0,01	0,36
Cálcio ionizado (mg/dL)	4,94 ^b (0,14)	5,99 ^a (0,15)	5,11 ^{ab} (0,14)	<0,01	<0,01	0,01
Magnésio (mg/dL)	1,73 ^c (0,05)	1,93 ^b (0,06)	2,41 ^a (0,05)	<0,01	<0,01	0,03
Hematológicos						
Bastonetes (%)	3,20 ^a (0,30)	1,70 ^b (0,35)	1,97 ^b (0,29)	<0,01	0,57	0,16
Eosinófilos (µL)	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 (µL)	12,67 (1,77)	12,60 (1,83)	10,60 (1,77)	0,66	0,05	0,96
Linfócitos (µL)	4,88 (4,27)	4,97 (4,46)	4,97 (4,20)	0,98	0,02	0,11
Monócitos(%)	3,87 ^a (0,43)	2,51 ^b (0,49)	1,63 ^b (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 ^a (0,13)	6,81 ^b (0,18)	6,54 ^b (0,13)	<0,01	0,15	0,24

178 ^{abc} Diferem entre si na mesma linha.

179 G0 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniónica
 180 G11 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta
 181 aniónica há 11 dias.
 182 G15, animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniónica 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 \pm erro padrão da média) avaliados em novilhas pré-
 192 parto induzidas à hipocalcemia subclínica recebendo dieta aniônica por diferentes
 193 períodos.

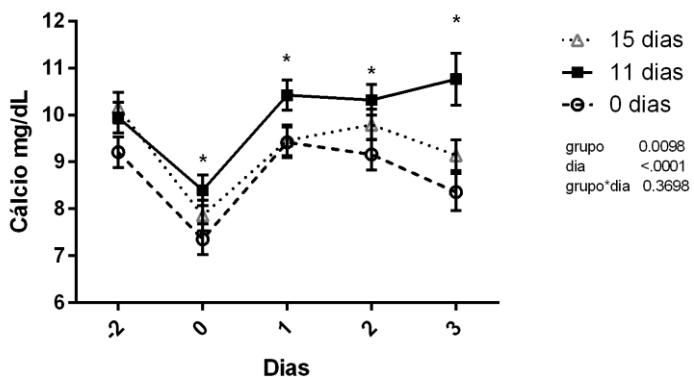
Parâmetro	G0	G11	G15	Valor de P		
				Grupo	Dia	Grupo x Dia
Frequência Cardíaca (bpm)	81 (2,8)	80 (2,8)	73 (2,8)	0,12	0,19	0,20
Frequência Respiratória (mpm)	28 (4,2)	35 (4,2)	32 (4,2)	0,51	0,62	0,34
Movimentos Ruminais (/2min)	1 (0,1)	2 (0,1)	1 (0,1)	0,29	0,50	0,09
Temperatura retal	38,0 (0,1)	38,6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

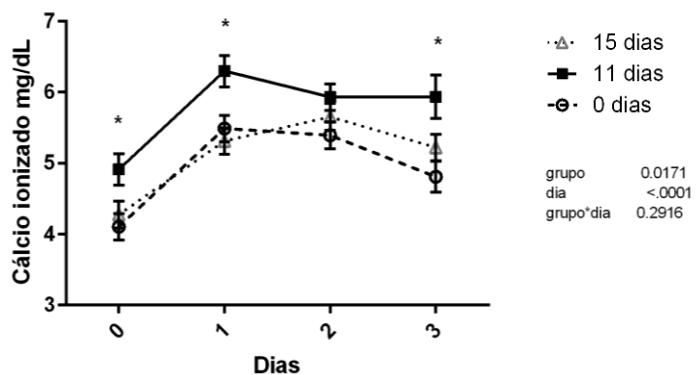
195 G11 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias.

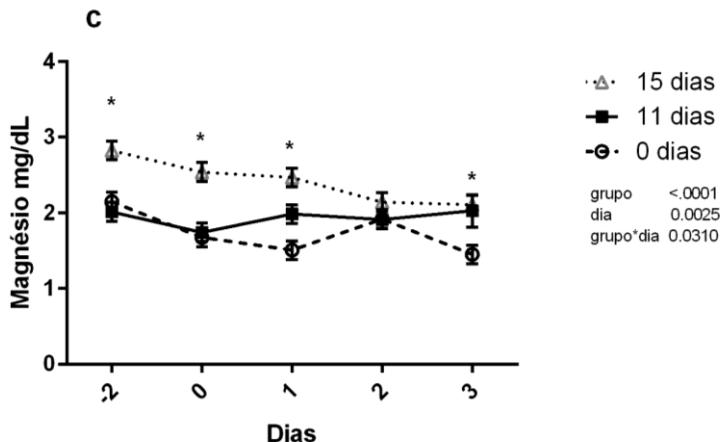
196 G15 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15 dias.

A



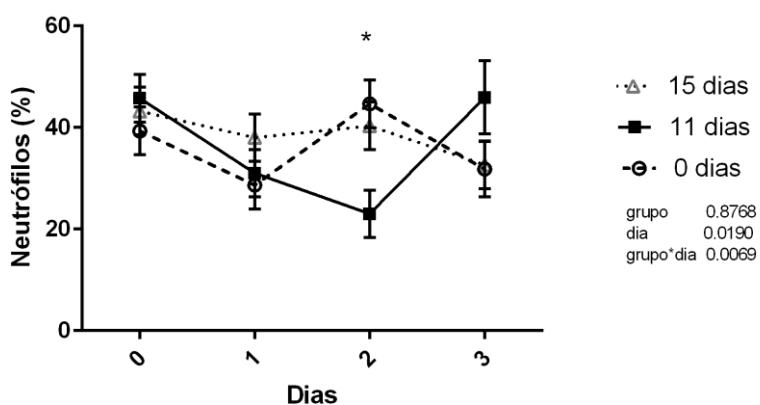
B





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 aniónica 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 aniónica 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 aniónica 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 aniónica 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 Concluímos 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 toxemis, 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 Ca^{2+} modulates
287 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 rations. *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 Na_2EDTA 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^a 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 peripartal 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 D₃ 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) pseudomallei* e *Clostridium botulinum* (SANTOS, 2010).

A leptospirose é uma zoonose cosmopolita, de origem bacteriana. Atinge animais domésticos, silvestres e accidentalmente 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 consequente 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 accidental 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 catiô-aniônico 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⁺, K⁺, Ca₂₊, Mg₂₊) 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 α - hidroxilase no rim, consequentemente 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:

- Avaliar os macro e micro minerais contidos na água e sua influência no metabolismo de vacas pré-parto suplementadas com dieta aniônica.
- Avaliar a qualidade microbiológica da água para isolamento de *Leptospiraspp* e relacioná-la com a sanidade do rebanho.

Metodologia e estratégia de ação

O trabalho será dividido em dois experimentos.

Experimento 1

O primeiro experimento compreenderá a visita à dez propriedades da região de Pelotas, Rio Grande do Sul. Será realizado questionário (Figura 1), que irá conter 14 perguntas para caracterizar o manejo da propriedade e saber se o produtor tem consciência da importância da ingestão de água pelos animais.

-
1. Quantos animais na propriedade: _____
 2. Quantos animais em ordenha: _____
 3. Quantas vacas secas: _____
 4. Animais são vacinados : Sim Não
Se sim, quais vacinas: _____
 5. Os animais são vermifugados? Sim Não
 6. Quantos litros de água acha que as vacas em lactação precisam ingerir por dia??
 5 10 20 40 50 100 150
 7. Quantos cochos de água tem na propriedade? _____
 8. Existem cochos de água na sala de espera? Sim Não
 9. Existem cochos de água depois da ordenha? Sim Não
 10. Existem cochos de água em todos os piquetes? Sim Não
 11. Qual o momento do dia que os animais tomam mais água? _____
 12. A água para o consumo animal é tratada? Sim Não
 13. A propriedade sofre alagamentos durante o ano? Sim Não
 14. Tiveram casos de aborto no último ano? Sim Não
-

Figura 1. Questionário para caracterização das propriedades avaliadas.

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 *Leptospiraspp* 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 - 7 dias 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: $(U_{ca}/S_{ua}) \times (C_{riar}/O_{crea}) \times 100$ e $(U_{m}/S_{m}) \times (C_{riar}/O_{crea}) \times 100$, 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 espectofotometria pelo método de Markset 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 TukeyHSD ($P < 0,05$). 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-anônico, 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 State University.

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.; SCHAAALJE, G. B. Acute effects of intravenously administered hypertonic saline solution on transruminal 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.