

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**FERNANDA ADAMI RIBEIRO**

**VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE  $\beta$ -HIDROXIBUTIRATO POR MEIO DE  
GLICOSÍMETRO PORTÁTIL EM OVELHAS PARA DIAGNÓSTICO DA TOXEMIA  
DA PRENHEZ**

**ALEGRE – ES**

**2015**



FERNANDA ADAMI RIBEIRO

**VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE  $\beta$ -HIDROXIBUTIRATO POR MEIO DE  
GLICOSÍMETRO PORTÁTIL EM OVELHAS PARA DIAGNÓSTICO DA TOXEMIA  
DA PRENHEZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas.

Orientadora Prof<sup>ª</sup> Dra.: Graziela Barioni.

**ALEGRE-ES**

**2015**

FERNANDA ADAMI RIBEIRO

**VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE  $\beta$ -HIDROXIBUTIRATO POR MEIO DE  
GLICOSÍMETRO PORTÁTIL EM OVELHAS PARA DIAGNÓSTICO DA TOXEMIA  
DA PRENHEZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas.

Aprovado em 25 de fevereiro de 2015.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Graziela Barioni**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**  
**Orientadora**

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lenir Cardoso Porfírio**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Isabella Vilhena Freire Martins**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**

A minha mãe.

## AGRADECIMENTOS

Escolher um tema, discutir e escrever sobre ele, por mais que pareça uma tarefa relativamente fácil, não é, mas agradecer a todas as pessoas envolvidas nesse processo, nos momentos pessoais e profissionais é muito mais complicado.

Agradeço a Deus, acima de qualquer coisa, por todas as oportunidades oferecidas, e por colocar pessoas que me deram força, incentivo e segurança no meu caminho.

À Magda, minha mãe, pessoa fundamental em minha formação, pelo amor, esforço, paciência, carinho, compreensão e por sempre estar verdadeiramente presente na minha vida.

À minha tia/madrinha Fátima, que desde sempre foi minha fada-madrinha, apostando em mim e me auxiliando com conselhos, atenção e muito carinho.

Ao meu namorado Guilherme Corteletti Erler, por todo amor, surpresas, carinho, incentivo, compreensão, atenção e todas aquelas horas de conversa e desabafos, quando o desespero batia a minha porta.

Ao Diefrey Ribeiro Campos, que sempre esteve ao meu lado, cuidando de mim como se fosse sua filha, brigando comigo como se fosse sua irmã, e me fazendo sorrir, como o grande amigo-irmão que é.

À Melina Simões Leão, que me ensina a rir das minhas próprias loucuras (além de incentivá-las dando boas risadas também), sempre me mostrando que as coisas não são tão ruins como parecem, ou não, rs.

Ao João Paulo e Rafaela Cardoso, pelas conversas, risadas e amizade.

À Jamili Maria Sueth, por toda a força, idéias e conversas antes de tudo isso começar.

À Jéssica Meirelles, pela amizade e boa convivência durante todo esse tempo.

Aos amigos que cursaram o mestrado comigo, por fazer das aulas momentos divertidos e prazerosos acima de tudo, principalmente Leandro Egert e Marcus Vinícius Martins Gonzaga.

À Mayara Cristiny Aguiar, pela companhia, risadas, e por me abrigar em sua casa quando preciso, tanto estudar quanto morar.

Ao Tarcísio Ávila dos Santos, parceiro de trabalho, sempre com ombro amigo e bom humor.

Ao Leonardo de Bruym Denadai, pela boa vontade, organização e disciplina durante o trabalho.

Ao Hiago, pela disponibilidade, gentileza e atenção no trabalho laboratorial.

Às parceiras de república que contribuíram, e muito, com meu amadurecimento por todo esse tempo, fiz belas amizades.

Ao Gustavo, fisioterapeuta que salva a minha coluna, sem ele seria impossível me manter sentada, concentrada e trabalhando.

À professora Carla Braga, minha “mamis” do coração, por todo o cuidado, carinho e interesse de saber se eu estava realmente bem e satisfeita nesse período.

À Alessandra e sua incansável simpatia, sempre me ajudando na secretaria da pós graduação.

À banca examinadora, Lenir Cardoso Porfírio e Isabella Vilhena Freitas Martins, pelo cuidado e atenção, além dos bons conselhos para o trabalho.

À professora de estatística Ana Paula Madureira, pela paciência, boa vontade e atenção.

À minha orientadora Graziela Barioni, pela paciência, compreensão, puxões de orelha, e por tentar me fazer entender que o mais importante de todo esse trabalho era encontrar um direcionamento na vida que me fizesse feliz.

Ao CCA-UFES e a CAPES, pela oportunidade de estudo e financiamento.

À propriedade e disponibilização dos funcionários onde foi realizado o experimento.

Enfim, obrigada a todos vocês, pessoas que me ensinaram que não adianta chegar ao meu destino sem desfrutar da viagem...

## RESUMO

RIBEIRO, FERNANDA ADAMI. **Validação da determinação de  $\beta$ -hidroxibutirato em fita reagente por meio de glicosímetro portátil em ovelhas da raça Dorper e White Dorper.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

Devido ao crescimento da ovinocultura e o aumento da demanda em relação aos seus produtos, há a necessidade de se investir na sanidade desses animais. Com isso, torna-se imprescindível a utilização de meios diagnósticos para afecções metabólicas, principalmente a toxemia da prenhez. Esta pesquisa tem como objetivo validar a técnica diagnóstica em fita reagente para  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) em glicosímetro portátil humano em ovelhas da raça Dorper e White Dorper. Foram utilizadas 111 ovelhas híbridas, 79 da raça Dorper e 32 White Dorper, em diferentes fases produtivas, sendo elas vazias (n=44), gestantes (n= 37) e recém-paridas (n= 30). A coleta de sangue foi realizada por punção da veia jugular, com sistema de coleta a vácuo, em tubo sem anticoagulante. Instantaneamente, foi realizada a determinação do  $\beta$ -hidroxibutirato pelo método da fita reagente utilizando-se o glicosímetro portátil e a determinação do  $\beta$ -hidroxibutirato no soro foi realizada em analisador bioquímico automático. A análise estatística foi realizada, mediante o teste de Kolmogorov-Smirnov ( $p < 0,05$ ), verificou-se a distribuição não paramétrica dos dados, sendo eles arranjados de maneira pareada, ao qual o mesmo indivíduo era analisado pelas duas técnicas, foi escolhido o teste de McNemar para a verificação da hipótese de diferença entre os testes. Além disso, foi realizado o cálculo do coeficiente Kappa (IC 95%) para verificar a reprodutibilidade dos testes, associado aos cálculos de sensibilidade e especificidade, considerando o teste laboratorial como padrão ouro. Não houve diferença estatística significativa entre os resultados da fita reagente para corpos cetônicos e da análise bioquímica em laboratório, considerando o total de 111 animais. Nesta análise, a estatística resultou em um índice Kappa de 85%, com sensibilidade da fita reagente de 93% e especificidade de 96%. Na classificação recém-parida, o teste McNemar ( $p = 0,3173$ ) com IC 95% demonstrou haver um coeficiente Kappa 80,6%, com 93% de sensibilidade e 87% de especificidade. As ovelhas recém-paridas, nesta categoria de grupos, possuem resultados pareados e, desta forma apresentou um coeficiente Kappa de 80,6%, com 93% de sensibilidade e 87% de especificidade. O teste da fita reagente para  $\beta$ -hidroxibutirato em glicosímetro portátil humano foi



considerado excelente e confiável, podendo ser utilizado como recurso diagnóstico em ovinos.

**Palavras-chave:** Corpos cetônicos. Ovinos. Diagnóstico

## ABSTRACT

RIBEIRO, FERNANDA ADAMI. **Validation of the determination of  $\beta$ -hydroxybutyrate on dipstick using a portable glucometer in sheep of Dorper and White Dorper.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

Due to the growth of sheep breeding and the increase in demand for their products, there is the need to invest in the health of these animals. Thus, it becomes essential to use diagnostic tools for metabolic diseases like toxemia of pregnancy. This research aims to validate the diagnostic technique in reagent strip for  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) in human portable glucose in sheep of Dorper and White Dorper. 111 otherwise healthy sheep, 79 of 32 Dorper and White Dorper were used in different production phases, which were empty ( $n = 44$ ), patients ( $n = 37$ ) and recently calved ( $n = 30$ ). Blood collection was performed by puncturing the jugular vein, with vacuum collection system, without anticoagulant tube. Instantly, was performed to determine the  $\beta$ -hydroxybutyrate test strip by the method of using the portable glucose meter. The determination of  $\beta$ -hydroxybutyrate in serum was performed in an automatic biochemical analyzer. Analysis, using the Kolmogorov-Smirnov test ( $p < 0.05$ ), there was a non-parametric distribution of the data, they are arranged in a paired manner, to which the same individual was examined by two techniques, the test was chosen McNemar to verify the difference between hypothesis testing. In addition, we performed the calculation of Kappa coefficient (95%) to check the reproducibility of the tests, combined with sensitivity and specificity calculations, considering the laboratory test as the gold standard. There was no significant difference between the results of dipstick to ketone bodies and biochemistry laboratory analysis, considering the total of 111 animals. In this analysis, the statistical resulted in a Kappa Index of 85%, with a sensitivity of the reagent strip 93% and specificity of 96%. In animals divided into different breeding groups, because there is no disagreement results, it is considered the Kappa index 100% and thus no possibility of calculating the sensitivity and specificity. This was only possible in newly calved classification of animals. In this category, the McNemar test ( $p = 0.3173$ ) with 95% demonstrated a Kappa coefficient 80.6%, with 93% sensitivity and 87% specificity. The recently calved sheep in this category groups have paired results and thus presented a Kappa coefficient of 80.6%, with 93% sensitivity and 87% specificity. The test reagent strip for  $\beta$ -hydroxybutyrate

in human portable blood glucose meter is considered excellent and reliable and can be used as a diagnostic tool in sheep.

**Keywords:** Ketone bodies. Sheep. Diagnosis

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
Figura 1 - Metabolismo energético em vacas leiteiras não-lactantes e lactantes durante o balanço energético negativo.....	22
Figura 2 - Coleta de sangue da veia jugular em ovelha White Dorper ....	28
Figura 3 - Fita reagent para avaliar corpos cetônicos em aparelho portátil, com resultado no visor, em mmol/L .....	29
Figura 4 - Kit para exame bioquímico laboratorial de $\beta$ -hidroxibutirato....	30
Figura 5 - Analisador bioquímico automático, Bioclin® .....	31
Figura 6 - Gráfico de dispersão demonstrando valores obtidos para $\beta$ -hidroxibutirato em tira reagent em glicosímetro portátil (BHB Fita) e com o exame bioquímico laboratorial (BHB Bioq), das 111 ovelhas avaliadas .....	33

## SUMÁRIO

	<b>Páginas</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2.REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1 Toxemia de prenhez.....	17
2.2 Balanço energético negativo (BEN).....	18
2.3 Metabolismo no balanço energético negativo.....	20
2.3.1 Metabolismo de escolha: $\beta$ -hidroxibutirato.....	22
2.3.2 Importância na dosagem do $\beta$ -hidroxibutirato.....	23
2.4 Exames utilizados para dosagem do $\beta$ -hidroxibutirato.....	24
2.4.1 Teste bioquímico laboratorial e teste de fita reagente em glicosímetro portátil.....	24
2.4.2 Teste de Rothera.....	26
2.4.3 Ensaio de Imunoabsorbância Ligado a Enzima (ELISA) no soro sanguíneo.....	26
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	27
3.1 Animais.....	27
3.2 Delineamento experimental.....	27
3.2.1 Seleção dos animais e coleta de amostras.....	27
3.2.2 Determinação do $\beta$ -hidroxibutirato em fita reagente.....	28
3.2.3 Determinação bioquímica do $\beta$ -hidroxibutirato.....	29
3.3 Análise estatística.....	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	36
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	37

## 1. INTRODUÇÃO

No ano de 2011, o número de ovinos no país era de 17,6 milhões de cabeças, tendo crescimento de 1,62% em relação ao ano anterior, sendo a região nordeste possuidora de 10,1 milhões de cabeças (IBGE, 2010). De acordo com Brinco (2010) estão previstas melhorias na infraestrutura do meio rural do estado do Espírito Santo entre os anos de 2007 a 2025, por meio do Novo Plano Estratégico de Desenvolvimento da Agricultura Capixaba (Novo Pedeag). Em 2010 foram registrados no Estado do Espírito Santo 1.161 estabelecimentos agropecuários com ovinos, totalizando 33.558 cabeças, sendo 18.006 matrizes, 4.080 reprodutores e 11.472 carneiros (BRINCO, 2010; IBGE, 2010). O plantel capixaba no final do ano de 2014 aproximou-se de 50.000 cabeças, formadas principalmente pelas raças Santa Inês, Dorper e White Dorper, sendo as duas últimas de origem sul-africana com franca expansão na pecuária brasileira (FOLHA DO ESPÍRITO SANTO, 2014).

A Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos do Espírito Santo (ACCOES), em 2013, destacou a importância da ovinocultura e caprinocultura na região, com aumento de 15% ao ano em sua base de associados e criadores. Entretanto, a falta de infraestrutura de abate, beneficiamento da carne e o direcionamento para o mercado, são dificuldades enfrentadas pelos criadores (ACCOES, 2014).

O governo do Estado do Espírito Santo por meio da Secretaria da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca (Seag) criou o programa Cordeiro Capixaba, em parceria com o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) e com a ACCOES, com objetivo de ampliar o rebanho e para que a produção Estadual satisfaça a demanda (ACCOES, 2014; IDAF, 2014). De acordo com o Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo (IDAF, 2014) com este programa haverá a superação da dificuldade do abate e melhora da participação dos produtores de ovinos em sua cadeia produtiva.

A elevação na produção e o maior grau de tecnificação das propriedades deve estar associado aos cuidados com manejo sanitário e prevenção de doenças metabólicas, como hipocalcemia, hipomagnesemia e lipidose hepática (LUNARDON, 2011; CARDOSO et al., 2011).

Em ovelhas, a gestação é considerada o período mais delicado devido ao aumento de suas necessidades nutricionais. Isso ocorre principalmente no terço final da gestação em animais de gestações múltiplas, devido ao aumento da demanda energética, mobilização de reservas corporais e da diminuição da matéria seca consumida como consequência ao tamanho do útero gestante aumentado e do rúmen diminuído (LUNARDON, 2011; RODRIGUES, 2011; NASCIUTTI, 2011; NASCIUTTI et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014), tendo como consequência o balanço energético negativo (SILVA, 2009).

Com a diminuição do consumo alimentar as fêmeas gestantes mantêm sua produção a partir da mobilização de reservas energéticas corporais (NASCIUTTI, 2012; ROCHA, FAGLIARI, 2014). Essa mobilização de lipídeos eleva o nível de ácidos graxos livres plasmáticos, e a constante lipólise e lipogênese natural do organismo determina a quantidade de ácidos graxos liberados (GUYOTI, 2014). Alterações nesse sistema são de difícil percepção e diminuem constantemente a produção animal, reduzindo a rentabilidade do setor agropecuário. Estudos de análises sanguíneas e das vias metabólicas relacionadas a energia, proteína e minerais podem ser empregados a fim de apresentar o perfil metabólico e permitir o diagnóstico das alterações no metabolismo dos animais (GONZÁLEZ, et al., 2000).

Nasciutti (2011) afirma que o  $\beta$ -hidroxibutirato é o metabólito escolhido para avaliar a via energética, por ser uma molécula estável em soro e plasma e não possui controle homeostático tão estreito como a glicose. Esta tem seu nível diminuído no sangue quando há déficit grave de sua concentração.

Assim, métodos diagnósticos que permitam avaliar a sanidade desses animais, e que sejam de baixo custo devem ser empregados (GONZÁLEZ et al., 2000). Nasciutti (2011) destaca que devido à alta casuística de doenças metabólicas há a necessidade de novos métodos de avaliação metabólica.

Duffield (2000) destaca que na literatura existem relatos de vários testes: Rothera, bioquímico laboratorial, tira reagente em glicosímetro portátil e, de acordo com Eurodiagnóstico (2014) o Ensaio de Imunoabsorbância Ligado a Enzima (ELISA), porém, este último somente para fins de pesquisa.

O teste bioquímico laboratorial é considerado o padrão ouro para a determinação quantitativa de BHB, com a desvantagem de ser um método mais oneroso e que

demanda tempo para o envio das amostras e realização do exame (DORÉ et al., 2013).

Nasciutti (2011) e Iwersen et al. (2013) destacaram os dispositivos portáteis, utilizados no controle da diabetes em humanos, para a detecção de corpos cetônicos em vacas e ovelhas.

Este trabalho tem como objetivo validar a técnica de determinação de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) em glicosímetro portátil humano, por meio de fita reagente em ovelhas da raça Dorper e White Dorper.



## 2.REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Toxemia da prenhez

Toxemia da prenhez é uma alteração metabólica ocasionada por alimentação não adequada durante o período da gestação, principalmente de fetos múltiplos, sendo caracterizada por hipoglicemia, cetose e acidose metabólica, com sintomas nervosos que podem ocasionar a morte das fêmeas no terço final da gestação (SANTANA, VIANA, 2001). Fêmeas subnutridas, assim como as de escore corporal bom ou obesas podem apresentar a toxemia da gestação (SANTANA, VIANA, 2001).

Em animais de alta produção, observa-se o balanço energético negativo (BEN) devido a ineficiente ingestão de matéria seca nas primeiras semanas de lactação. Devido ao BEN, e as baixas concentrações de glicose e insulina no soro sanguíneo, ocorre a mobilização de tecido adiposo com o aumento dos ácidos graxos não-esterificados e do BHB. Além disso, a demanda energética dos fetos no terço final da gestação, principalmente em fêmeas que gestam gêmeos ou trigêmeos, ou animais superalimentados no início ou meio da gestação sofrem um declínio nutricional. As ovelhas predispostas a toxemia da prenhez produzem uma quantidade ineficiente de glicose em relação à sua demanda, causando hipoglicemia, acúmulo de cortisol e de corpos cetônicos (RADOSTITS, 2010).

Existem dois tipos: toxemia da prenhez tipo I e tipo II. A toxemia tipo I ocorre quando a alimentação fornecida não atende a demanda do animal, associada a gestação de fetos múltiplos. Alimentos de pouca digestibilidade e baixa qualidade podem predispor a afecção (SANTANA, VIANA, 2001; PUGH, 2004). Contudo, a toxemia tipo II é relacionada a uma superalimentação, sendo esta mal balanceada, rica em grãos e farelos (SANTANA, VIANA, 2001; PUGH, 2004)

Ovelhas obesas tem seu espaço abdominal ocupado por gordura e pelo útero em expansão, diminuindo o espaço que antes era ocupado pelo rúmen, tendo dificuldade para consumir quantidade suficiente de alimento para as suas necessidades energéticas. Tendo elas gestações gemelares, sua demanda aumenta mais ainda no terço final da gestação, sendo ovelhas com gêmeos com necessidade de mais 180% de energia, e com trigêmeos, de 200 a 250%. Independentemente da causa desse déficit, ocorre o BEN, fazendo com que esses animais mobilizem seu estoque de gordura corporal e que ela seja transportada ao fígado. Após ser

catabolizada no fígado, a gordura é convertida a glicerol e ácidos graxos livres (AGL), que podem ser usados no Ciclo de Krebs como fonte de energia, porém não como fonte direta de glicose (PUGH, 2004).

Os sinais clínicos observados são: alterações de comportamento, como apatia, podendo evoluir para um decúbito prolongado, com hipomotilidade ou atonia ruminal além de hálito cetônico e visão direcionada para cima, conhecida como “olhar para as estrelas”. É umas das maiores causas de mortalidade no pré-parto, principalmente devido a diminuição do consumo de alimento, predispondo a animal a doenças concomitantes (CAMPOS et. al, 2010; CORRÊA, GONZÁLEZ, SILVA, 2010), como hipocalcemia, hipomagnesemia e lipidose (ROCHA, FAGLIARI, 2014).

Animais inapetentes apresentam menos substrato ruminal para produzir ácido propiônico, que é o precursor da glicose. Assim o oxalacetato que é parte do Ciclo de Krebs é retirado e convertido em glicose, e esta diminuição inibe a função normal do Ciclo, não possibilitando o uso dos AGL, fazendo com que este aumente. Este aumento é convertido em corpos cetônicos ou reintroduzidos às lipoproteínas. Como essa reintrodução não é eficiente, há a sobreposição das lipoproteínas em relação a metabolização hepática, e o fígado é denominado fígado gorduroso. Como oxalacetato é retirado do Ciclo, diminui a capacidade do fígado em utilizar o AGL e ocorre acúmulo de corpos cetônicos (PUGH, 2004).

## 2.2 Balanço energético negativo (BEN)

De acordo com Rocha e Flagliari (2014) o período das três semanas antes até às três semanas pós parição compreende as intensas modificações do metabolismo relacionadas ao final da gestação e começo da produção leiteira. Além disso, a demanda energética dos fetos no terço final da gestação, principalmente em fêmeas que gestam gêmeos ou trigêmeos, ou animais superalimentados no início ou meio da gestação sofrem um declínio nutricional (RADOSTITS et al., 2010; SANTOS et al., 2011). Tendo elas gestações gemelares, sua demanda aumenta mais ainda no terço final da gestação, sendo ovelhas com gêmeos com necessidade de mais 180% de energia, e com trigêmeos, de 200 a 250% (PUGH, 2004).

Em pequenos ruminantes, ocorre redução do consumo de matéria seca de 16% nos últimos 30 dias antes do parto, associado ao aumento de, aproximadamente, 66%

de exigência energética, promovendo nos animais o balanço energético negativo (BEN) (RODRIGUES, 2011).

Devido ao aumento da demanda energética, a redução da ingestão de matéria seca, o terço final da gestação com maior desenvolvimento fetal e a lactação, e a intensa mobilização de reservas corporais, ocorre o BEN com contínua lipomobilização (SANTOS et al., 2011). Assim, as concentrações de glicose e insulina no soro diminuem, há uma contínua mobilização de tecido adiposo com consequente aumento dos ácidos graxos não esterificados e corpos cetônicos, como o  $\beta$ -hidroxibutirato (RIBEIRO et al., 2003; NASCIUTTI, 2011; ROCHA, FAGLIARI, 2014; CARDOSO et al., 2011). Nesse período ocorre a mobilização do glicogênio, no fígado (ROCHA, FAGLIARI, 2014).

As ovelhas que sofrem intensa mobilização das reservas corporais são predispostas a toxemia da prenhez, produzem uma quantidade ineficiente de glicose em relação à sua demanda, causando hipoglicemia, acúmulo de cortisol e de corpos cetônicos (RADOSTITS, 2010; SANTOS et al., 2011). Toxemia da prenhez é uma alteração metabólica ocasionada por alimentação não adequada durante o período da gestação, principalmente de fetos múltiplos, caracterizada por hipoglicemia, cetose e acidose metabólica, com sintomas nervosos que podem ocasionar a morte das fêmeas no terço final da gestação. Fêmeas subnutridas, assim como as de escore corporal bom ou obesas podem apresentar a enfermidade (SANTANA, VIANA, 2001).

Existem dois tipos: toxemia da prenhez tipo I e tipo II. A toxemia tipo I ocorre quando a alimentação fornecida não atende à demanda do animal, uso de alimentos de pouca digestibilidade e baixa qualidade. Contudo, a toxemia tipo II é relacionada a uma superalimentação, rica em grãos e farelos (SANTANA, VIANA, 2001; PUGH, 2004).

Na prevenção do BEN em fêmeas produtivas, deve-se atender as exigências nutricionais, aumentar o consumo de matéria seca, adaptar o rúmen, evitar perda de condição corporal, diminuir a mobilização das reservas corporais com excreção de corpos cetônicos, e prevenir doenças metabólicas (ROCHA, FAGLIARI, 2014). O BEN tem efeitos prejudiciais sobre a saúde de ovelhas, como a diminuição da produtividade leiteira em vacas e imunossupressão. Esta aumenta a susceptibilidade a doenças infecciosas, como metrite e mastite. Isto poderia ser uma explicação plausível para a

maior ocorrência de desordens metabólicas em ovelhas com BHB e NEFA elevados (KARAGIANNIS et al., 2010; KREMPASKY et al., 2014).

### 2.3 Metabolismo no balanço energético negativo

Um das consequências do BEN é o mecanismo de adaptação do Ciclo de Krebs, que passa a utilizar o Acetil-CoA para a produção de corpos cetônicos, como o  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) (SILVA, 2009).

Em seu experimento, Karagiannis et al. (2010) observaram a enfermidade em animais classificados como magros, normais e obesos, portanto esta afecção está relacionada a intensidade da mobilização de reservas corporais, e não necessariamente em qual escore de condição corporal (ECC) o animal se encontra. O aumento de uma unidade de BHB já é considerado suficiente para promover uma desordem metabólica em animais nessas condições de intensa mobilização.

Por isso ovelhas obesas possuem respostas lipolíticas maiores para estimulação adrenérgica, e isto é provavelmente um fator importante para explicar maior ocorrência de problemas de saúde em ovelhas nesse ECC. Desordens no periparto ocorrem com mais frequência em ovelhas com concentração elevada de BHB, fazendo com que este seja considerado um bom preditor do estado de saúde neste período produtivo. A condição energética da ovelha no periparto é estimado principalmente medindo BHB e AGNE no sangue. A concentração de AGNE no soro reflete a magnitude da mobilização de gordura, enquanto que a concentração de BHB indica a totalidade da oxidação de gordura no fígado (KARAGIANNIS et al., 2010).

A taxa de lipólise é maior que a lipogênese, com aumento dos ácidos graxos livres (AGL) como fonte de energia. Esse é metabolizado no fígado, entretanto, o órgão possui capacidade limitada para converter triglicerídeo a lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL), fazendo com que ocorra acúmulo de gordura hepática, causando alterações metabólicas ao organismo, como cetose, toxemia da prenhez e lipidose hepática (ROCHA, FLAGLIARI, 2014).

Após ser catabolizada no fígado, a gordura é convertida a glicerol e AGL, que podem ser usados no Ciclo de Krebs como fonte de energia, porém não como fonte direta de glicose (PUGH, 2004).

Segundo Nasciutti (2011) a relação lipólise / lipogênese é controlada de forma hormonal, pois a adrenalina e o glucagon são secretados quando há diminuição dos níveis de glicose no sangue para promover a lipólise. Entretanto, a insulina antagoniza os hormônios lipolíticos e inibe a ação da enzima lipase, incitando a lipogênese ao estimular enzimas de esterificação dos ácidos graxos e aumentando o nível de glicose na célula adiposa.

Assim, há aumento da concentração de ácidos graxos não esterificados no sangue, que podem ser convertidos em Acetil-Coenzima A (Acetil-CoA). Após o nascimento do cordeiro, há uma elevação no requerimento da quantidade de lactose para a produção leiteira e, juntamente com a mobilização energética ocorre um desequilíbrio na proporção Acetil-CoA: Oxaloacetato, afetando a formação de citrato. Este funciona como intermediário nas reações do Ciclo de Krebs tanto do Acetil-Co A quanto do Oxaloacetato para a produção de energia, e dessa forma, com sua desproporção, há um desequilíbrio também na formação de energia na forma de ATP. Com isso, o organismo utiliza o Acetil-Co A para produzir cetonas (acetona, acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato) podendo chegar ao quadro de cetose e toxemia da prenhez (SILVA, 2009).

Qualquer que seja a causa primária, como inapetência ou redução da ingestão de energia resultam em um BEN. Nessa condição, os animais mobilizam o estoque de gordura corporal e transporta ao fígado. Neste, a gordura é catabolizada, originando glicerol e ácidos graxos livres (AGL). Estes podem ser utilizados no Ciclo de Krebs, como fonte de energia, porém, não para a produção direta de glicose. Os animais inapetentes apresentam menos disponibilidade de substrato ruminal para a produção de ácido propiônico, que é o precursor da glicose. Desse modo, o oxaloacetato, integrante do Ciclo de Krebs é retirado do Ciclo e convertido em glicose. Essa depleção do oxaloacetato inibe a função normal do Ciclo, e impossibilita o uso do AGL, formado anteriormente. A medida que eles aumentam, são convertidos em corpos cetônicos ou reintegrados às lipoproteínas. Como essa reintrodução não é eficiente, as lipoproteínas se sobrepõem a capacidade do fígado de metabolização, resultando em fígado gorduroso. Como há menor disponibilidade de oxaloacetato para a produção de glicose, mais oxaloacetato é retirado do Ciclo, piorando a capacidade do organismo em utilizar o AGL. Dessa forma, há o acúmulo contínuo de corpos

cetônicos (PUGH, 2004). A formação de corpos cetônicos e do fígado gorduroso é mostrada na figura 1.

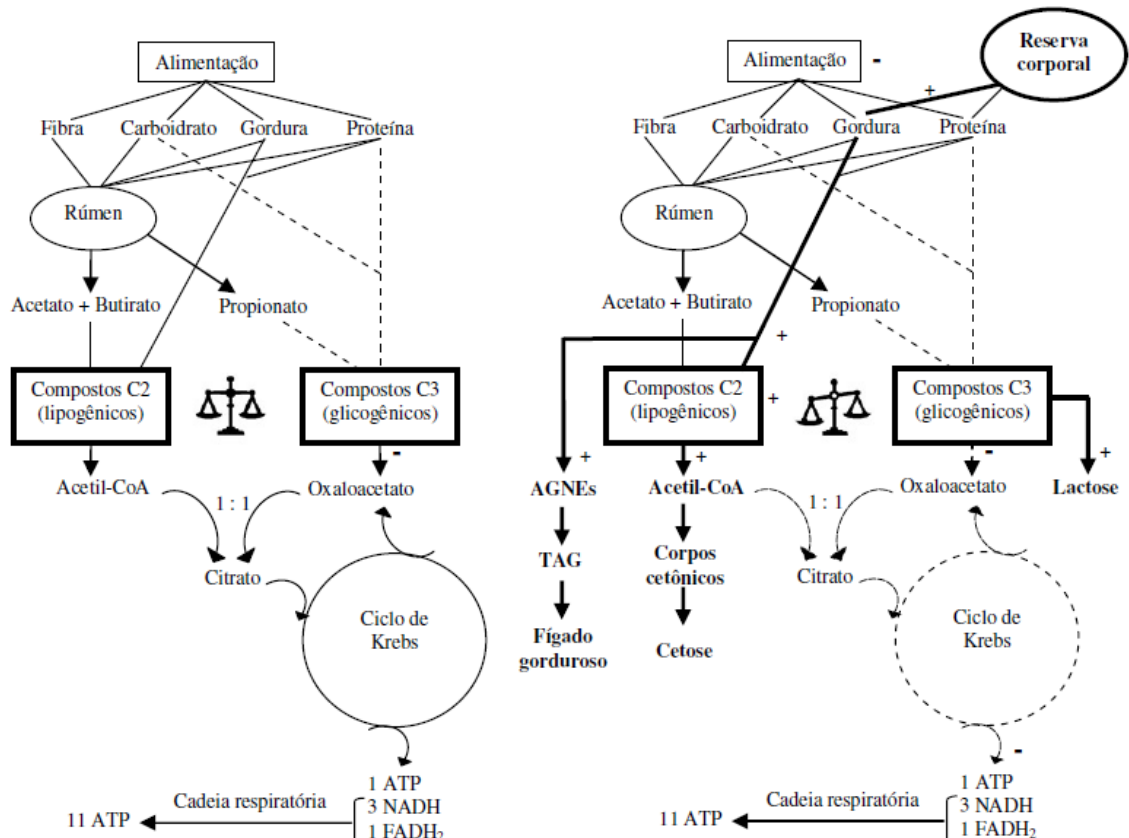


Figura 1 - Metabolismo energético em vacas leiteiras não lactantes e lactantes durante o balanço energético negativo.

AGNEs: Ácidos Graxos Não-Esterificados; TAG: Triacilglicerol; ATP: Adenina Trifosfato; NADH: nicotinamida Adenina Nucleotídeo; FADH<sub>2</sub>: Dinucleotídeo de Flavina e Adenina.

Fonte: (SILVA, 2009).

### 2.3.1 Metabólito de escolha: $\beta$ -hidroxibutirato

A glicose é a representante do metabolismo energético, porém, sua utilização para avaliar o balanço energético não é feita devido às poucas variações que sofre com as alterações de dieta, manejo e estresse animal, pois sua regulação é hormonal, sendo necessário um déficit grave para que sua concentração sanguínea seja diminuída (NASCIUTTI et al., 2012).

Dessa forma, o BHB, que é estável em soro e plasma, mais estável do que a acetona e não possui um controle homeostático tão estreito como a glicose, é o

metabólito escolhido (GONZÁLEZ et al., 2000; NASCIUTTI, 2011; IWERSEN et al., 2013).

### 2.3.2 Importância na dosagem do $\beta$ -hidroxibutirato

A dosagem de BHB é um dado confiável, ao ser medido em aparelho de dosagem manual portátil, por auxiliar na diminuição de ocorrência de desordens próximas ao parto (PANOUSIS et al., 2012). Por isso, planos estratégicos devem ser determinados para monitorar a saúde das ovelhas (KARAGIANNIS et al., 2014). Panousis et al. (2012) concordam e afirmam que o diagnóstico precoce de distúrbios metabólicos deve ser empregado devido a sua importância na ovinocultura. Segundo Iwersen et al. (2009), ao final da gestação, 50% dos animais podem apresentar doenças metabólicas e, dessa forma, observa-se a importância do monitoramento, principalmente nesse período..

O BHB é um parâmetro de verificação considerado não subjetivo, e possui uma associação com distúrbios metabólicos (KREMPASKY et al., 2014). Dado que o resultado de BHB no sangue total pode ser considerado fácil e confiável quando verificado em medidor portátil, é recomendado para medir BHB de forma instantânea. Isso diminui o risco de alterações metabólicas (KARAGIANNIS et al., 2014). O metabolismo energético da fêmea pode ser avaliado durante todo seu ciclo produtivo (ROCHA, FAGLIARI, 2014), e a coleta de sangue pode demonstrar indicadores importantes em relação aos ácidos graxos não esterificados e BHB, pois eles indicam a mobilização de tecido adiposo para o fígado, que será utilizado como fonte de energia (RODRIGUES, 2011), sendo o sangue o fluido mais utilizado para determinar o estado metabólico (GONZÁLEZ et al.; 2000; NASCIUTTI, 2011).

Karagiannis et al. (2014) afirmaram que o valor de BHB pode ser considerado um bom preditor do estado da saúde, no periparto. Ele também reflete o BEN, e por isso a determinação do BHB pode prever o estado energético durante essa fase reprodutiva.

Iwersen et al. (2013) relatam que o aumento do BHB possui associação negativa com a produção de leite e desempenho reprodutivo, podendo fazer com que o animal seja descartado do rebanho.

Considerando assim, Kaneko, Harvey e Bruss (1997) determinaram como valores normais de BHB para ovinos no sangue a média de  $0,55 \pm 0,04$  mmol/L. De acordo Oliveira et al. (2014) uma ovelha é diagnosticada como positiva para toxemia da prenhez quando o valor de BHB for superior a 0,6mmol/L.

## 2.4 Exames utilizados para dosagem do $\beta$ -hidroxibutirato

### 2.4.1 Teste bioquímico laboratorial e teste de fita reagente em glicosímetro portátil

A determinação de corpos cetônicos pode ser realizada no sangue, urina e leite, sendo o padrão mais confiável o diagnóstico de BHB no soro (VOYVODA; ERDOGAN, 2010).

O teste bioquímico laboratorial é considerado o padrão ouro para determinar cetose subclínica, avaliando o BHB no soro ou no plasma, entretanto, os valores da concentração de BHB podem ser alterados com o aumento da temperatura da amostra de sangue. As diferenças dos resultados obtidos em laboratório com o dispositivo portátil não foram afetados pelas condições de armazenamento do dispositivo e tiras de teste, mas sim influenciada pela temperatura da amostra de sangue testado. A elevação da temperatura proporcionou diferenças estatísticas de cerca de 30% entre resultados laboratoriais e de fita reagente com glicosímetro (IWERSEN et al., 2013).

Segundo Doré et al. (2013), a desvantagem desse teste é a necessidade de levar as amostras coletadas a um laboratório para realizar o exame, pois estes devem possuir aparelhos específicos para sua aferição, e somado a isso, o processamento das amostras, se comparado com outros testes, é demorado. Assim, o medidor portátil pode substituir o exame laboratorial.

O BHB em sangue total pode ser mensurado pelo aparelho portátil manual, por ser confiável e recomendado para a aferição de BHB imediatamente após a coleta de sangue, e no local da coleta (KARAGIANNIS et al., 2014).

O método utilizado é o eletrônico portátil biossensível (glicosímetro portátil) para medir corpos cetônicos no sangue. Ocorre uma reação eletroquímica entre o reagente da tira específica de cetonas do aparelho, gerando uma corrente elétrica, que é



proporcional a concentração de corpos cetônicos em  $\mu\text{mol/L}$  no sangue (VOYVODA, ERDOGAN, 2010). O aparelho foi concebido para dosar corpos cetônicos em humanos, porém, já foi validado para bovinos com sensibilidade de 85% e uma especificidade de 95% para um limiar de 1,4mmol/L de BHB (IWERSEN, et al., 2009; VOYVODA; EDORGAN, 2010).

O aparelho Precision Xceed® antes utilizados em humanos para medir glicose e BHB com fitas reagentes, foi considerado preciso para obter valores em vacas, entretanto, não havia relatos para ovinos. Porém mostrou-se altamente sensível e específico, com sensibilidade de 98,6% e especificidade de 98,2%, com resultados semelhantes aos de laboratório. Assim, o aparelho é considerado útil para o monitoramento de ovelhas e confiável para iniciar o tratamento da toxemia da prenhez. Possui um tempo de aferição, antes do resultado, de dez segundos, após uma gota de sangue total entrar em contato com o receptor da tira reagente. O teste de BHB com medidor portátil pode substituir o envio de amostras ao laboratório, com um custo menor e resultado imediato (PANOUSIS et al., 2012).

Dispositivos portáteis foram fabricados para testes de diabetes em humanos. Em vacas, um aparelho portátil foi utilizado para a medição de corpos cetônicos e o resultado foi comparado com testes bioquímicos, das mesmas amostras de sangue, de dois laboratórios. O resultado foi um coeficiente de correlação entre o glicosímetro e um laboratório de 92,2% ( $p < 0,01$ ) e entre o glicosímetro e o outro laboratório 94% ( $p < 0,01$ ) (IWERSEN et al., 2013).

Comparando o método do glicosímetro com a isatacoforese, que é uma técnica de química analítica, semelhante a eletroforese, que separa seletivamente e quantifica analitos iônicos, onde observa o quão rápido um íon migra através de um campo elétrico, não se observou diferença estatística significativa, demonstrando que o glicosímetro portátil é um método extremamente confiável (KREMPASKY et al., 2014).

O teste para exploração da quantificação de BHB demonstra resultados excelentes e precisos para ovinos, vacas e gatos. Em cabras, obteve um coeficiente de correlação de 98%. Logo, o teste em glicosímetro portátil obtém resultados de alta precisão se comparado ao padrão ouro (DORÉ et al., 2013).

Pichler et al. (2014a) realizaram um experimento onde comparavam a retirada de sangue pela veia jugular com a coleta da veia presente na orelha. Os resultados indicam que a retirada de sangue pela orelha poderia ser realizada alternadamente

com a retirada de sangue pela veia jugular, e que não há diferença estatística de aferição de BHB entre a coleta da orelha se comparada a coleta pela veia jugular. A coleta de sangue pela veia da orelha comparada com a coleta da veia jugular obteve um coeficiente de correlação de 95%, ( $p < 0,01$ ), indicando que o teste é adequado em cabras. Em ovelhas, o Precision Xceed® apresentou resultado semelhante, de 94%.

#### 2.4.2 Teste de Rothera

O princípio do Teste de Rothera consiste na reação de cetonas com o nitroprussiato de sódio. Essa reação provoca o aparecimento de uma coloração que vai do rosa claro ao vinho intenso, dependendo da quantidade de cetonas presentes na amostra. Pode ser utilizado por meio de fita reagente impregnada com o nitroprussiato de sódio, ou por comprimido, servindo para análise na urina e no leite (COMSTOCK; GARBER, 2014).

O nitroprussato reage mais com acetoacetato do que com acetona, porém, não reage com o BHB. Este teste pode detectar 4mg/dL de corpos cetônicos totais no leite, sendo 2mg/dL de acetoacetato e de acetona, o que representa 10-15mg/dL de corpos cetônicos totais do sangue. Isso implica que o teste pode refletir o nível sanguíneo de corpos cetônicos. Ele é rápido e mede, de forma semi-quantitativa os níveis de BHB (DUFFIELD, 2000).

#### 2.4.3 Ensaio de Imunoabsorbância Ligado a Enzima (ELISA) no soro sanguíneo

Em humanos, há o teste de ELISA para determinar quantitativamente o BHB, entretanto é utilizado para fins de pesquisa, e não como método diagnóstico (EURODIAGNOSTICO, 2014).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho relativo ao projeto de pesquisa intitulado “Perfil Metabólico em Ovinos” foi aprovado pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Espírito Santo atendendo as normas éticas, conforme estabelecidas na legislação vigente e no regime interno da CEUA-UFES, sob o protocolo nº 019/2014.

#### 3.1 Animais

Foram utilizadas 111 ovelhas adultas, 79 da raça Dorper e 32 da raça White Dorper, nos seguintes períodos reprodutivos: 37 gestantes, 30 recém paridas e 44 vazias.

O manejo sanitário era realizado com vacinação anual contra raiva e clostridioses e a vermifugação era realizada com base no resultado da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), sendo o princípio ativo escolhido a partir da eficácia dos fármacos usados.

O manejo nutricional das ovelhas vazias e paridas era semi extensivo, durante o dia ficavam soltas no pasto (*Brachiaria* spp.) e ao entardecer confinadas. Durante o confinamento as ovelhas vazias recebiam apenas sal mineralizado próprio para espécie, as recém - paridas além do sal mineral, recebiam capim picado ou silagem de milho no cocho e 1% do peso vivo de suplementação com concentrado, podendo chegar a 2% dependendo da qualidade da pastagem. No pré-parto as ovelhas ficavam em sistema de confinamento e recebiam capim picado ou silagem de milho à vontade no cocho, concentrado na proporção de 1% do peso vivo por dia e sal mineral à vontade.

#### 3.2 Delineamento experimental

##### 3.2.1 Seleção dos animais e coleta de amostras

As ovelhas foram previamente selecionadas por meio de exame de inspeção, avaliação de mucosas (método Famacha), sendo utilizados apenas os animais

considerados hígidos. A coleta de sangue foi realizada por punção de veia jugular, com sistema de coleta a vácuo, em tubo sem anticoagulante, como pode ser vista na figura 2.



Figura 2 – Coleta de sangue da veia jugular em ovelha White Dorper.  
Fonte: arquivo pessoal.

Os tubos com as amostras de sangue foram acondicionadas em isopor com gelo reciclável, sem ultrapassar quatro horas em seu interior, até serem centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para a separação do soro. O soro foi separado e aliqotado em tubos de polietileno de 1,5 mL previamente identificados e armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização do exame bioquímico.

### 3.2.2. Determinação do $\beta$ -hidroxibutirato em fita reagente

Foi realizada a determinação do  $\beta$ -hidroxibutirato, com uma gota de sangue total, imediatamente após a coleta, pelo método da fita reagente (Fita FreeStyle Optium  $\beta$ -ketone, Abbott<sup>®</sup>) utilizando-se glicosímetro portátil humano (Optium Xceed, Abbott<sup>®</sup>).

As tiras, ao serem retiradas da caixa, encontravam-se em embalagens laminadas, individualizadas. Ao serem removidas da embalagem sendo retiradas pela parte pontilhada, as barras de contato, que se encontravam na extremidade, foram inseridas

na porta do monitor, até uma leve resistência ocorrer. Assim, o monitor foi ligado automaticamente. Após, foi colocada uma gota de sangue na área alvo branca, no final da tira teste e o sangue direcionou-se para dentro da mesma. Assim, ocorreu uma reação eletroquímica na tira, proporcional a quantidade de corpos cetônicos, em mmol/L no sangue, e o valor foi demonstrado no monitor do aparelho, como mostra a figura 3.



Figura 3 – Fita reagente para avaliar corpos cetônicos em aparelho portátil, com resultado no visor, em mmol/L.

Fonte: arquivo pessoal.

### 3.2.3 Determinação bioquímica do $\beta$ -hidroxibutirato

A determinação do BHB foi realizada seguindo as instruções do kit comercial (Ranbut, Randox®), em analisador bioquímico automático (Mindray BS 120, Bioclin®) (Figuras 4 e 5).

O princípio da determinação do BHB é a oxidação de D-3-hidroxiacetato a acetoacetato pela enzima 3-hidroxiacetato desidrogenase. Concomitante com esta oxidação o cofator NAD<sup>+</sup> é reduzido a NADH e a mudança de absorvância associada pode ser diretamente correlacionada com a concentração de D-3-hidroxiacetato.

Os reagentes são compostos de uma solução tampão (R1A), de “tris” tampão, em 100 mmol/L e pH 8,5, 2 mmol/L de EDTA e 20 mmol/L de ácido oxálico; solução Enzima / Coenzima, composta por 2,5 mmol/L de NAD<sup>+</sup> e 0,12U/mL de 3-HBDH (R1B), e solução padrão, composta por D-3-hidroxiacetato, para observar a inserção no lote específico.

Ocorreu o preparo do reagente: foram adicionados 10mL do reagente tampão (R1A) no reagente enzima / coenzima (R1B) e feita a homogeneização. Após, essa solução foi colocada no analisador Mindray BS120, no disco de reagentes, e a solução padrão, foi utilizada para a calibração do equipamento, em uma concentração de 1,03 mmol/L.



Figura 4 – Kit para exame bioquímico laboratorial de  $\beta$ -hidroxiacetato.

Fonte: arquivo pessoal.



Figura 5 – Analisador bioquímico automático, Bioclin®.  
Fonte: arquivo pessoal.

### 3.3 Análise estatística

Pelos dados terem apresentado uma distribuição não paramétrica (verificada mediante teste de Kolmogorov-Smirnov ( $p < 0,05$ ) e serem arranjos de maneira pareada, onde o mesmo indivíduo foi avaliado pelas duas técnicas, os resultados foram avaliados mediante teste de McNemar no intuito de verificar a hipótese de diferença entre os testes. Além disso, foi realizado o cálculo do coeficiente Kappa (IC95%) para verificar a reprodutibilidade dos testes e os cálculos dos valores de sensibilidade e especificidade considerando-se o teste em laboratório como padrão ouro. Para cálculo da sensibilidade e especificidade foram considerados animais positivos, aqueles que apresentaram valores de BHB superiores a 0,6 mmol/L.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 1 e 2 demonstram os valores médios em mmol/L e desvios padrão encontrado nas ovelhas, comparando o exame da tira reagente em glicosímetro portátil com o exame bioquímico laboratorial.

Tabela 1 - Valores de média e desvio padrão de  $\beta$ -hidroxibutirato determinados pelos métodos de fita reagente em glicosímetro portátil humano (BHB Fita) e análise bioquímica laboratorial (BHB Laboratorial), em 111 ovelhas das raças Dorper e White Dorper em diferentes fases produtivas e em cada fase produtiva.

Métodos (mmol/L)	Média (mmol/L)	Desvio Padrão
BHB Fita	0,4	0,2
BHB Laboratorial	0,4	0,2

Fases Produtivas	BHB Fita (mmol/L)	BHB Laboratorial (mmol/L)
Vazias (n= 44)	0,3±0,1	0,3±0,1
Gestantes (n= 37)	0,3±0,1	0,3±0,1
Recém-Paridas (n= 30)	0,6±0,4	0,6±0,3

Não houve diferença estatística significativa entre os resultados da fita reagente para corpos cetônicos e da análise bioquímica em laboratório, considerando o total de 111 animais. Nesta análise, o teste McNemar ( $p= 0,3173$ ) com IC 95% resultou em um índice Kappa entre os testes de fita reagente e laboratorial de 85%, com sensibilidade da fita reagente de 93% e especificidade de 96%. No gráfico de dispersão (figura 6), está demonstrada a proximidade dos valores dos exames de fita



reagente com glicosímetro portátil e exame bioquímico laboratorial nos 111 animais avaliados.

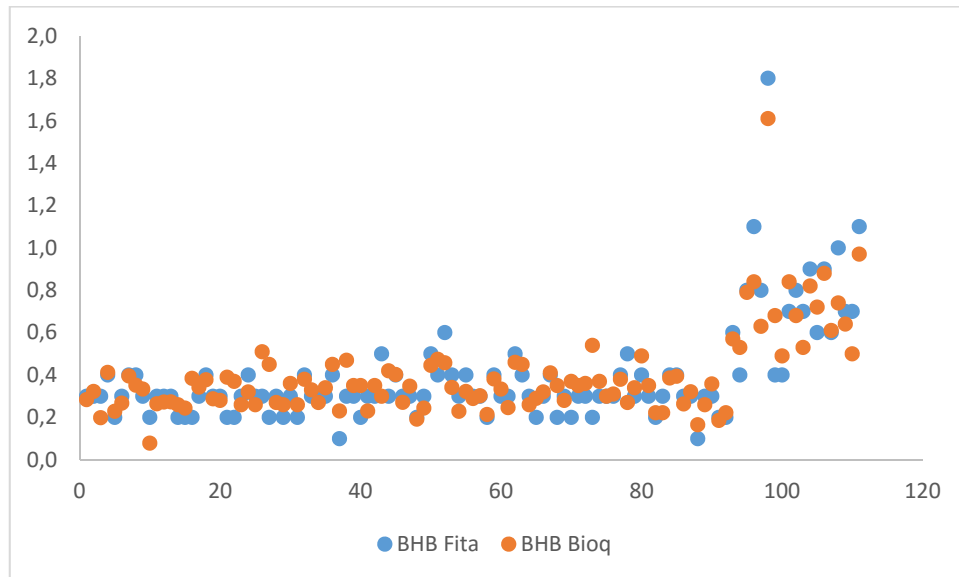


Figura 6 - Gráfico de dispersão demonstrando valores obtidos para  $\beta$ -hidroxibutirato em tira reagente em glicosímetro portátil (BHB Fita) e com o exame bioquímico laboratorial (BHB Bioq), das 111 ovelhas avaliadas

Nos animais divididos em grupos reprodutivos vazias e gestantes, por não apresentarem animais com valores de BHB superiores ao nível de corte (0,6 mmol/L), não foi possível realizar o cálculo para determinação da sensibilidade e a especificidade do método com a fita reagente. Sendo possível somente nos animais de classificação recém-parida. Nessa categoria, o teste McNemar ( $p= 0,3173$ ) com IC 95% demonstrou haver um coeficiente Kappa 80,6%, com 93% de sensibilidade e 87% de especificidade.

Os coeficientes Kappa encontrados nesse experimento, 85% e 80,6%, podem ser considerados de boa a ótima concordância, como descrito por Pereira, (1995).

Nesta pesquisa, como podemos observar, tanto a sensibilidade quanto a especificidade possuíram valores a nível de exatidão para o teste em fita reagente excelentes. O que vem de acordo com o descrito por Pereira (1995) que afirma que a validade de um teste diagnóstico parte do princípio que o resultado pode ser aceito como expressão da verdade para ser atestado, observando a sensibilidade e especificidade, sendo a primeira com o máximo de capacidade para diagnosticar indivíduos verdadeiramente positivos para doença, e a segunda, a capacidade que o teste possui em diagnosticar corretamente os indivíduos sadios.

Panousis et al. (2012), em seu experimento de obtenção de valores de BHB em ovinos classificados em período seco e de lactação com o aparelho Precision Xceed®, observou uma sensibilidade de 98,6% e especificidade de 98,2%. As medidas do aparelho foram semelhantes as verificadas pelo teste laboratorial. No presente experimento, animais classificados como recém-paridos, que equivalem aos animais em lactação do autor, apresentaram alta sensibilidade ao teste de fita reagente, porém, sua especificidade foi menor que a apresentada por ele.

Contudo, o teste em glicosímetro portátil em fita reagente quando comparado ao bioquímico laboratorial em ovinos, demonstrou ser confiável devido à sensibilidade e especificidade resultante. Isso concorda com Nasciutti (2011), que obteve uma sensibilidade de 90% e especificidade de 97% em um experimento semelhante, porém em vacas

O presente experimento apresenta uma concordância de boa a ótima entre o glicosímetro portátil e a fita reagente, o que também foi demonstrado por Pichler et al. (2014a), pois eles descrevem as análises do glicosímetro portátil e fita reagente em relação ao exame bioquímico laboratorial com características altamente positivas para concentração de BHB em glicosímetro se comparado com o método bioquímico laboratorial, também em ovelhas.

Voyvoda e Erdogan (2010), Panousis (et al., 2011) e Pichler (et al., 2014a) afirmam que a fita reagente é um teste benéfico para o monitoramento de animais com risco de cetonemia e, no caso de ovelhas, toxemia gravídica. Além disso, concordam com os resultados estatísticos demonstrados nesta pesquisa, pois afirmam que não há diferença significativa entre o teste laboratorial com o de fita reagente para corpos cetônicos. Pichler et al. (2014a) não observaram diferenças estatísticas para o teste de fita reagente com o exame laboratorial, semelhante a esta pesquisa.

A sensibilidade e a especificidade demonstradas na pesquisa apresentam valores semelhantes ao de Pichler et al. (2014b). Estes adaptaram os resultados de BHB coletados em cabras com os já existentes para ovelhas e demonstraram resultados para sensibilidade de 98% e especificidade 85% com IC 95% em cabras com sangue coletado pela veia da orelha, em relação ao método com glicosímetro portátil com coleta pela veia jugular. Tanto esta pesquisa quanto o experimento desse autor demonstram que o resultado de BHB em glicosímetro portátil é confiável.

O presente trabalho demonstra a possibilidade de se encontrar um diagnóstico rápido para toxemia da prenhez clínica e subclínica, pois é um método ágil, confiável e eficiente na determinação de valores de BHB para cada animal estudado. O mesmo foi observado por Voyvoda e Erdogan (2010) e Panousis et al. (2011), que afirmam que a importância do estudo está no ponto de vista biológico, pois tanto o exame em fita reagente quanto o exame laboratorial não apresentam diferença estatística, em vacas, determinando mais uma vez a confiabilidade do exame para diagnóstico precoce de doenças que podem causar a queda na produção ou a perda do animal no rebanho.

Outra análise a ser considerada é a econômica. O kit bioquímico custa, em média R\$ 434,38, e possui capacidade para efetuar 200 exames, fazendo com que cada exame custe, no mínimo R\$2,17. Entretanto, as fitas reagentes FreeStyle® utilizadas no exame com glicosímetro portátil Option Xceed® custam, R\$ 2,99, já que uma caixa com 10 tiras custa R\$29,90, e o aparelho portátil, em média R\$ 50,00. Dessa forma, sabe-se que o custo dos exames é equivalente, porém, para a realização do exame bioquímico existem custos adicionais, como o envio da amostra até o laboratório, os valores dos seus aparelhos e o preço do exame cobrado pelo laboratório. As vantagens para a dosagem do exame de BHB em glicosímetro portátil é a rapidez da análise, pois após a coleta de sangue, espera-se 10 segundos para obtenção do resultado, ou seja, faz-se ao pé do animal, além de ser um exame confiável, como já foi demonstrado. Voyvoda e Erdogan (2010) e Doré et al. (2013) concordam com a informação da presente pesquisa, pois afirmam que, além da rapidez do resultado para BHB, é um exame mais barato que o envio de uma amostra ao laboratório.

## 5. CONCLUSÃO

A dosagem de BHB por meio da fita de determinação em glicosímetro portátil se mostrou método confiável e de simples execução para ovinos, podendo ser utilizada como recurso diagnóstico, auxiliando no trabalho do médico veterinário a campo. Dessa forma, é possível diagnosticar de maneira segura alteração no metabolismo energético dos animais submetidos ao teste de fita, evitando-se a piora do quadro clínico e sua consequência, a toxemia gravídica.

## 6. REFERÊNCIAS

ACCOES – Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos do Espírito Santo. ACCOES promove ovinocaprinocultura no Espírito Santo. ACCOES. 2014. Disponível em <[http://www.accoes.com.br/noticias,251,accoes\\_promove\\_ovinocaprinocultura\\_no\\_espirito.html](http://www.accoes.com.br/noticias,251,accoes_promove_ovinocaprinocultura_no_espirito.html)>. Acesso em: 27 set. 2014.

BRINCO. E.. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER). Mercado pode criar novas oportunidades na agropecuária capixaba 2010. Disponível em <[http://www.incaper.es.gov.br/?a=noticias/2010/abril/noticias\\_06\\_04\\_2010\\_4](http://www.incaper.es.gov.br/?a=noticias/2010/abril/noticias_06_04_2010_4)>. Acesso em: 27 set. 2014.

CAMPOS. A,G;AFONSO. J,A,B; SANTOS. R,A; MENDONÇA. C,L; GUIMARÃES. J,A. Estudo clínico-laboratorial da toxemia da prenhez em ovelhas: análise retrospectiva. Ciência Animal Brasileira. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/5499/7930>>. Acessado em 29 set. 2014.

CARDOSO.E,C; OLIVEIRA.D,R; BALARO.M,F,A; RODRIGUES.L,F,S; BRANDÃO.F,Z. Índices produtivos e perfil metabólico de ovelhas santa inês no pós parto no nordeste do Pará. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v18, n213, p.114-120, 2011.

COMSTOCK. J,P; GARBER. A. Clinical methods: the history, phisycal, and laboratory examinations – Ketosis. 3 ed. 1990. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK247/> >. Acessado em: 15 ou 2014.

CORRÊA. M,N; GONZÁLEZ. F,H,D; SILVA. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. Pelotas: Editora Universitária , 2010, 345p.

DORÉ.V; DUBUC.J; BÉLANGER.A,M; BUCZINSKI.S. Short communication: Evaluation of the accuracy of na eletronic on-farm test to quantify blood  $\beta$ -hydroxybutyrate concentration in dairy goats. **Journal Dairy Science**, v.1, n.96, p.4505-4507, 2013.

DUFFIELD. T. in: HERDT. T,H. **The Veterinary Clinics of North América**. Food animal practice – Metabolic disorders of ruminants,v.16, n. 2, 2000.

EURODIAGNOSTICO. Disponível em: < <http://www.eurodiagnostico.com/en/catalog/product/view/id/14826/s/beta-hydroxybutyrate-elisa-kit/category/3/> >. Acesso em: 09 out 2014.

FOLHA DO ES. Ovinocultura cresce no Espírito Santo. Diponível em: <[www.folhadoes.com/noticia/2014/08/14/ovinocutura-cresce-no-espirito-santo.html](http://www.folhadoes.com/noticia/2014/08/14/ovinocutura-cresce-no-espirito-santo.html)> Acessado em: 08 fev. 2015.

GONZÁLEZ. F,H,D; BARCELLOS. J; PATIÑO. H,O; RIBEIRO. L,A. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre. Gráfica da Universidade do Rio Grande do Sul, 2000, 3760.

GUYOTI.V,M. Efeito da esquil durante a gestação no metabolismo de ovelhas e cordeiros na fase pós nascimento.2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias – Patologia Clínica). Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

Instituto Brasileiro Geográfico Estatístico (IBGE). Produção da pecuária municipal 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/default.shtm>>. Acessado em: 24 set. 2014.

IDAF – Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo. Seag participa do primeiro abate experimental de cordeiros em frigorífico da Grande Vitória. IDAF – Portal do Governo do Estado do Espírito Santo.2014.Disponível em <[http://www.idaf.es.gov.br/WebForms/wfNoticia.aspx?cd\\_Noticia=598](http://www.idaf.es.gov.br/WebForms/wfNoticia.aspx?cd_Noticia=598)>. Acesso em: 27 set. 2014.

IWERSEN. M; FALKENBERG. U; VOIGTSBERGER. R; FORDERUNG. D; HEUWIESER. W; 2009. Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. Journal of Dairy Science, v.92, n. 6, p. 2618-2624, 2009.

IWERSEN.M; KKLEIN-JOBSTL.D; PICHLER.M; ROLAND.L; FILDLSCHUSTER.B; SCCHWENDENWEIN.I; DRILLICH.M. Comparason of 2 electronic cowside tests to detect subclinical ketosis in dairy cows and the influence of the temperature and type of blood sample on the tests results. American Dairy Science Association, v.12, n.96, p.7719-7730, 2013.

KANEKO. J,J;HARVEY. J,W; BRUSS. M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed., San Diego: Academic Press,. 1997, 493p.

KARAGIANNIS.I; PANOUSIS.N; KIOSSIS.E; TSAKMAKIDIS.I; LAFI.S; ARSENOS.G; BOSCOS.S,C; BROZOS. Ch. Associations of pre-lambing body condition score and sérum  $\beta$ -hydroxybutyric acid and non-esterified fatty acids concentration with peroparturient health of chios dairy ewes. Small Ruminant Research v.1,n.120, p.164-173, 2014.

KREMPASKY.M; MASKAL'OVÁ.I; BUJNÁK.L; VADJA.V. Ketone bodies in blood of dairy cows: prevalence ond monitoring of subclinical ketosis. **Acta Veterinaria Brno**, n.83, p.411-416, 2014.

LUNARDON. I. Toxemia Da gestação em ovelhas Trabalho de conclusão de curso (Relatório Técnico e Monografia). Universidade Federal do Paraná. Curitiba.2011.  
MORAES. L,H,S; SILVA. L,E,O; ZILIO. F,L; BUFFON. C,S; ANDRADE. J; MORETTE. K,L; NORO.M. Intensidade da reação do teste de rothera com a acetona. XXII Mostra de iniciação científica – Ecosystem Sustainability. Universidade de Passo Fundo.2012. Disponível em: <[file:///C:/Users/NOTEBOOK/Downloads/luiz\\_henrique\\_shehadeh\\_de\\_moraes-139181-resumo-intensidade\\_da\\_reacao\\_do\\_teste\\_de\\_rothera\\_com\\_a\\_aceto.pdf](file:///C:/Users/NOTEBOOK/Downloads/luiz_henrique_shehadeh_de_moraes-139181-resumo-intensidade_da_reacao_do_teste_de_rothera_com_a_aceto.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2014.

NASCIUTTI.N,R. Perfil metabólico em ovelhas santa inês com baixo escore de condição corporal no periparto.2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias – Saúde Animal). Programa de Pós Graduação da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

NASCIUTTI.N,R; TSURUTA.S,A; OLIEVIRA.R,S,B,R; BISINOTO.M; HEADLEY.S,A; MINDIM.A,V; NOLETO.P,G; SAULT.I,P,E. Perfil metabólico em ovelha santa inês, com baixo escore de condição corporal, no periparto. **Boletim de Indústria Animal** Nova Odessa, v.69, n.2, p.137.-145, 2012.

OLIVEIRA, R, P M; MADURO. A,H,P; LIMA. E,S; OLIVEIRA. F,F. Perfil metabólico de ovelhas santa inês em diferentes fases de gestação criadas em sistema semi-intensivo no estado do Amazonas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, 15720p.

PANOUSIS. N; KRITSEPI. M; KARAGIANNIS. I; KALAITZAKIS. E; LAFIS. S; BROZOS. CH. Evaluation of precision Xceed for on-site monitoring of blood  $\beta$ -hydroxybutyric acid and glucose in dairy cows. **Journal of The Ellenic Veterinary Medical Society**, v.93, n. 1, p.435-439, 2011.

PANOUSIS.N; BROZOS.Ch; KARAGIANNIS.I; GIADINIS.N,D; LAFI.S; KRITSEP-KONSTANTINOUM Evaluation of Precision Xceed® meter for on-site monitoring of blood  $\beta$ -hydroxybutyric acid and glucose concentration in dairy sheep. **Veterinary Science**, v.97,n.93,p.435-439, 2012.

PEREIRA.M,G.**Epidemiologia: teoria e prática**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1995, 363p.

PICHLER. M; DAMBERGER. A; SCHWENDENWEIN. I; GASTEINER. J; DRILLICH. M; IWERSEN. M. Threshold of whole-blood  $\beta$ -hydroxybutyrate and glucose concentration measured with an electronic hand-held device to identify ovine hyperketonemia. **American Dairy Science Association**, v.97, n.3, p.1171-1197, 2014a.

PICHLER.M; DAMBERGER.A; ARNHOLDT.T; SCHWENDENWEIN,J; GASTEINER.J; DRILLICH.M; IWERSEN.M. Evaluation of 2 electronic handheld devices of diagnosis of ketonemia and glycemia and dairy goats. **American Dairy Science Association**, v. 12, n.97, p.7538-7546, 2014b.

PUGH. D,G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo. Rocca, 2004, 210p.

RADOSTITS. O,M; GAY. C,C; BLOOD. D,C; HINCHCLIFF. K,W. **Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos.**, 9 ed.,Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, 792p.

RIBEIRO.L,A,O; GONZÁLEZ.F,H,D; CONCEIÇÃO.T,R; BRITO.M,A; LA ROSA.V,L; CAMPOS.R. Perfil metabólico de borregas corriedale em pastagem nativa do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinarie**,v.31, n.3, p.167-170, 2003.

ROCHA. T,G; FAGLIARI. J,J. Exames laboratoriais auxiliares no diagnóstico de enfermidades de vacas no periparto – Cetose. Palestra. Simleite, 2014.

RODRIGUES. R,M,C;Cadeia Produtiva - Análise do desenvolvimento do rebanho ovino e caprino no Brasil em 2011.FarmPoint. 2012.Disponível em <<http://www.farmpoint.com.br/cadeia-produtiva/especiais/analise-dodesenvolvimento-do-rebanho-ovino-e-caprino-no-brasil-em-2011-81339n.aspx>>. Acesso em: 27 set. 2014.

SANTANA. A,F; VIANA. D,F. Alguns aspectos da toxemia da prenhez em pequenos ruminantes. Monografia (Graduação em Ciências Veterinárias). Escola de medicina Veterinária. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2001.

SANTOS. F,C,O; MENDONÇA.C,L; FILHO.A,P,S;CARVALHO.C,C,D; SOARES.P,C; AFONSO.J,A,B. Indicadores bioquímicos e hormonais de casos naturais de toxemia da prenhez em ovelhas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.11, p.974-980, 2011.

SILVA.L,M. Influência do estado nutricional sobre o desempenho reprodutivo pós parto de cabras anglo-nubianas criadas extensivamente no nordeste do Brasil.2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias – Reprodução e Sanidade Animal). Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2009.

VOYVODA. H; ERDOGAN. H. Use of hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, n. 89, v.89, p.344-351, 2010.