

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

**RENAN DE MELLO SPADETTO**

**CETOSE E HIPOCALCEMIA EM VACAS LEITEIRAS E A RELAÇÃO COM A  
MASTITE**

**ALEGRE-ES**

**2016**

**RENAN DE MELLO SPADETTO**

**CETOSE E HIPOCALCEMIA EM VACAS LEITEIRAS E A RELAÇÃO COM A  
MASTITE**

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 avaliação.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Graziela Barioni

Coorientador: Prof. Dr. Dirlei Molinari Donatele

ALEGRE-ES

2016

RENAN DE MELLO SPADETTO

**CETOSE E HIPOCALCEMIA EM VACAS LEITEIRAS E A RELAÇÃO COM A  
MASTITE**

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 2016.**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

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

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Dirlei Molinari Donatele  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

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

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Diogo Vivacqua de Lima  
Multivix Castelo

Dedico aos meus pais, pelo apoio e incentivo  
em todos os dias de minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

À DEUS, minha força, meu auxílio bem presente nas horas difíceis.

Aos meus pais, Saulo e Lucilene, pelos princípios e ensinamentos, pelo exemplo de vida e por todo esforço exercido para que eu chegasse até aqui.

A minha orientadora, Dr<sup>a</sup>. Graziela Barioni, pelos ensinamentos, orientação, paciência e confiança em mim exercida.

A toda a minha família, em especial ao meu irmão Rafael, pelas palavras de apoio e incentivo.

À minha noiva Vanuza pelo carinho, amor e paciência durante essa etapa de minha vida.

A todos que participaram direta ou indiretamente no projeto.

A Universidade Federal do Espírito Santo e ao Centro de Ciências Agrárias.

À CAPES e a FAPES pelo incentivo a pesquisa e o suporte financeiro.

Aos Professores Dr. Dirlei Molinari Donatele, Dr<sup>a</sup>. Lenir Cardoso Porfírio e Dr. Diogo Vivacqua de Lima pelo apoio no trabalho e pela colaboração na banca, sendo prestativos em todas as horas.

Aos meus “irmãos” de república pelo acolhimento e companhia durante esses dois anos, saibam que durante esse período vocês foram a minha família.

Aos animais, da qual dedicamos nossas vidas, e expressamos nossa eterna gratidão.

“No semblante de um animal que não fala, há todo um discurso que somente um espírito sábio pode realmente entender”.

Mahatma Gandhi

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ACetil-CoA-** Acetilcoenzima A
- AGVs-** Ácidos graxos voláteis
- BEN-** Balanço energético negativo
- βHB-** β-hidroxibutirato
- CCS-** Contagem de células somáticas
- CMT-** Califórnia Mastite Teste
- dL-** Decilitro
- DNA-** Ácido desoxirribonucléico
- g-** Gramas
- gpm-** Giro por minuto
- HDL-** Lipoproteína de alta densidade
- L-** Litro
- LDL-** Lipoproteína de baixa densidade
- MAPA-** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- MT-** Mato Grosso
- mEq-** Miliequivalente
- mg-** Miligramas
- mmol-** Milimol
- NEFA-** Ácidos graxos não esterificados
- PTH-** Paratormônio
- RS-** Rio Grande do Sul
- VLDL-** Lipoproteína de muito baixa densidade
- USDA-** United States Departamento of Agriculture

## RESUMO

SPADETTO, R. M. **Cetose e hipocalcemia em vacas leiteiras e a relação com a mastite**. 2016. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

A pecuária leiteira é importante atividade no agronegócio brasileiro, gera alimento e renda para a população, seu crescimento ocorre por meio da intensificação dos sistemas de produção e do melhoramento genético, objetivando maiores lucros e menores custos, no entanto esse aumento produtivo elevou também o risco de transtornos metabólicos. O objetivo do trabalho foi correlacionar quadros subclínicos de hipocalcemia e de cetose com a mastite em vacas leiteiras mestiças na região do Caparaó, estado do Espírito Santo. Foram utilizadas vacas mestiças (Holandês x Zebu) em diferentes fases produtivas procedentes de 34 propriedades localizadas em sete municípios da região do Caparaó Capixaba. Foi realizado o diagnóstico de mastite clínica e subclínica por meio dos testes de caneca de fundo preto e *California Mastitis Test* respectivamente. A amostra de sangue foi coletada por meio de punção da veia ou artéria coccígea em tubos de coleta a vácuo sem anticoagulante, a dosagem de glicose foi realizada com o sangue total em glicosímetro portátil Optium Xceed<sup>®</sup>. As concentrações séricas de  $\beta$ -hidroxibutirato, ácidos graxos não esterificados, triglicerídeos, colesterol e cálcio foram realizadas em analisador bioquímico automático. As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistical Analysis System (SAS) versão 8.0 e no programa OpenEpi. Foi encontrado elevada ocorrência de mastite clínica (4,85 %), mastite subclínica (44,50 %), cetose subclínica (34,20 %) e hipocalcemia subclínica (29,89 %) na microrregião do Caparaó Capixaba. Não foi encontrada correlação entre cetose bovina e a mastite, no entanto a hipocalcemia elevou em 2,72 vezes a probabilidade de vacas sofrerem com quadros de mastite.

**Palavras chave:** avaliação; ocorrência; transtornos metabólicos

## ABSTRACT

SPADETTO, R. M. **Ketosis and hypocalcemia in dairy cows and the relation with mastitis**. 2016. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

The dairy farming activity is important in Brazilian agribusiness, which generate food and income for the population, its growth has occurred through intensification of production systems and genetical improvement, aiming higher profits and lower costs, however this production increase also raised the risk of metabolic disorders. The aim of this study was to correlate subclinical hypocalcemia boards and ketosis with mastitis in crossbred dairy cows in Caparaó region, state of Espírito Santo. Crossbred cows were used (Holstein x Zebu) at different production phases coming from 34 properties in seven counties of the Caparaó Capixaba region. It was carried out the diagnosis of clinical and subclinical mastitis through the tests for black background Mug and *California Mastitis Test* (CMT) respectively. The blood sample was collected by puncture of the vein or artery coccyx in vacuum tubes without anticoagulant, the dosage of glucose was performed using total blood in a portable glucometer Optium Xceed®. Serum concentrations of  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ HB), non-esterified fatty acids (NEFA), triglycerides, cholesterol and calcium were performed in automatic biochemical analyzer. Statistical analyzes were performed using the Statistical Analysis System (SAS) version 8.0 and OpenEpi program. There was high incidence of clinical mastitis (4.85%), subclinical mastitis (44.50%), subclinical ketosis (34.20%) and subclinical hypocalcemia (29.89%) in the micro Caparaó Capixaba. No correlation was found between bovine ketosis and mastitis, however hypocalcemia in increased 2.72 times as likely to suffer cows with mastitis frames.

**Key-words:** evaluation; occurrence; metabolic disorders

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2- REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1 Mastite Bovina.....	15
2.2 Perfil Metabólico.....	20
2.2.1 Avaliação do metabolismo energético.....	20
2.2.1.1 Glicose.....	20
2.2.1.2 Triglicerídeos.....	21
2.2.1.3 Colesterol.....	22
2.2.1.4 $\beta$ -hidroxibutirato.....	22
2.2.1.5 Ácido graxo não esterificado.....	23
2.2.2 Avaliação dos níveis de cálcio total.....	24
2.3 Alterações metabólicas e sua correlação com a mastite.....	25
2.3.1 Hipocalcemia.....	25
2.3.2 Cetose.....	27
<b>3.REFERÊNCIAS</b> .....	30
<b>4. CAPÍTULO 1: Correlação entre a cetose e a ocorrência de mastite em vacas leiteiras na região do Caparaó-ES</b> .....	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
INTRODUÇÃO.....	39
MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	45
<b>5. CAPÍTULO 2: Influência da hipocalcemia subclínica na ocorrência de mastite em vacas leiteiras na região do Caparaó-ES</b> .....	49
RESUMO .....	49
ABSTRACT .....	49
INTRODUÇÃO .....	50

MATERIAL E MÉTODOS .....	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	54

## 1. INTRODUÇÃO

A pecuária tem fundamental importância no desenvolvimento da economia de um país, suas funções nesse processo vão desde o fornecimento de alimentos a preços baixos para a população à geração de emprego, renda e mercado consumidor para bens industrializados, a pecuária leiteira é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro (MAPA, 2014).

O Brasil é grande produtor de leite ocupando a quarta posição no ranking mundial com produção de 33 bilhões de litros, atrás dos Estados Unidos com mais de 93 bilhões de litros, seguidos pela Índia e China com 60 bilhões e 36 bilhões de litros, respectivamente (USDA, 2015). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (2013) as projeções futuras para a produção leiteira do Brasil devem atingir 41,3 bilhões de litros de leite cru no final do período 2023.

A busca constante por maiores índices produtivos gerou o desenvolvimento da pecuária nos últimos anos, por meio da intensificação dos sistemas de produção com o objetivo de maior rentabilidade e menores custos, para isso, tem sido selecionado por melhoramento genético, animais de alta produção, porém, essa seleção tem aumentado o risco de doenças metabólicas (GARCIA, 2010), tais como a cetose e a hipocalcemia.

A cetose é uma enfermidade metabólica caracterizada pelo aumento dos níveis séricos plasmáticos de corpos cetônicos, enquanto a hipocalcemia ocorre uma diminuição nos níveis de cálcio. Esses transtornos metabólicos que acometem os bovinos ocorrem por desequilíbrio entre os nutrientes que ingressam ao organismo animal, o seu metabolismo e os egressos, como as fezes, a urina, o leite e o feto, se este desequilíbrio for de curta duração e leve, o metabolismo do animal pode compensar utilizando suas reservas corporais, por outro lado, se for moderado ou severo e persistente, ocorre a doença (WITTEWER, 2000).

Para Lago et al. (2004) esse desequilíbrio conhecido como balanço energético negativo (BEN) tem maior ocorrência nas primeiras seis semanas do pós parto, devido ao pico de lactação acontecer entre a 4ª e 6ª semanas e o pico de consumo de matéria seca não ocorre antes de oito a dez semanas pós parto. Além do mais, vacas de alta produção podem requerer até 80% do suprimento total de glicose para produzirem leite, predispondo a transtornos metabólicos energéticos, como a cetose, os quais afetam a saúde e a produtividade das vacas leiteiras.

Nos casos de hipocalcemia, ocorre uma falha na manutenção das concentrações de cálcio pelos mecanismos homeostáticos, além de a demanda de cálcio no pós-parto ser maior, principalmente para a produção de colostro e subsequente produção de leite (BARRÊTO JÚNIOR et al., 2011).

Nesse período de alterações metabólicas as vacas leiteiras passam por um período de imunossupressão que combinados ao estresse da lactação geram maiores risco de adquirirem outras doenças (NETO et al., 2011). LeBlanc (2010) citou que aproximadamente 75% das enfermidades que acometem vacas leiteiras ocorrem no primeiro mês pós-parto.

Dentre essas enfermidades pode-se citar a mastite bovina. Segundo Cunha et al. (2006) a mastite é a inflamação da glândula mamária que provoca alterações físicas, químicas e bacteriológicas do leite, e do tecido glandular. Esta afecção constitui sério problema para a produção leiteira, determinando relevantes perdas econômicas devido à redução na produção, descarte do leite e gastos com tratamentos. Para Duffiel (2000) quadros de cetose podem aumentar o risco de desenvolvimento da mastite em 40 vezes, enquanto na hipocalcemia a probabilidade é 8,1 vezes maior (GOFF; KIMURA, 2002).

O objetivo deste trabalho foi associar quadros subclínicos de hipocalcemia e cetose com a ocorrência de mastite em vacas leiteiras mestiças na região do Caparaó, Estado do Espírito Santo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Mastite bovina

A palavra mastite, derivada do grego *mastos*, ou mamite, do latim *mammae* (DIAS, 2007) é processo inflamatório da glândula mamária, de origem multifatorial, da qual envolve a interação entre o animal, o patógeno e o meio ambiente (OLIVEIRA; MELO; AZEVEDO, 2009). Oliveira et al. (2010) citaram que a mastite pode ser causada por agentes químicos, físicos, tóxicos, fisiológicos e infecciosos, principalmente de origem bacteriana. As consequências dessa enfermidade são alterações nas propriedades físico-químicas do leite e no parênquima glandular, que pode estar presente em qualquer glândula mamária funcional (FONSECA; SANTOS, 2001).

A mastite é a enfermidade mais prevalente na pecuária leiteira, determinando queda na produção de leite, perdas pelo descarte e morte de animais, e altos custos com tratamento (SCHUCH et al., 2008), além de afetarem diretamente a composição e o tempo de vida de prateleira do leite e derivados, causando enormes prejuízos para os laticínios. A ocorrência de mastite causa diminuição da síntese de proteínas importantes para a fabricação de queijo, como por exemplo, da caseína e aumento das proteínas do soro, que são indesejáveis para os laticínios (FONSECA; SANTOS, 2001).

No entanto, o prejuízo econômico gerado pela mastite não é o único problema associado à enfermidade, que também causa transtornos à saúde pública, uma vez que podem gerar reações alérgicas e efeitos tóxicos provenientes das alterações causadas pelo uso do antibiótico, caso o produtor não respeite o período de carência dos medicamentos (CASSOL et al., 2010), bem como problemas com transmissão de patógenos zoonóticos que geram doenças de origem alimentar resultantes da ingestão de leite contaminado e/ou por contato direto com animais doentes ou portadores (GUIMARÃES; LANGONI, 2009).

Segundo Cruz et al. (2011) ao acompanharem os registros de ordem sanitária de rebanho leiteiro no sul do Brasil durante o período de 2000 a 2009, observaram

uma prevalência de 27,8% de mastite. Guerson (2015) relata ocorrência de 48,34% de mastite subclínica e 2,17% de mastite clínica na região do Caparaó Capixaba.

A infecção da glândula mamária ocorre na maioria das vezes por invasão dos micro-organismos pelo canal do teto, e ascende à cisterna da glândula. Este processo ocorre geralmente durante a ordenha, por meio da ordenhadeira, mãos do ordenhador ou outros materiais contaminados, podendo, no entanto, ocorrer quando os animais estão em camas contaminadas, no período de tempo entre ordenhas (AIRES, 2010).

Santos e Fonseca (2007) relacionam o envolvimento de diversos grupos de micro-organismos na etiologia das infecções intramamárias de bovinos, dentre estes agentes encontram-se os vírus, algas, fungos, micoplasmas e, principalmente, as bactérias.

Os patógenos podem ser divididos em dois grupos de acordo com sua origem e modo de transmissão: descritos como agentes contagiosos e ambientais. Os agentes contagiosos são adaptados a sobreviverem no interior da glândula mamária, e são transmitidos de um animal para outro, da qual se destacam o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Em contrapartida os agentes ambientais são descritos como patógenos invasores oportunistas do úbere, não sendo adaptado a sobreviver no seu interior, são encontrados normalmente no ambiente, os principais são a *Escherichia coli*, o *Streptococcus dysgalactiae* e o *Streptococcus uberis* (MARTINS et al., 2010). Embora 137 microrganismos diferentes possam estar envolvidos na etiologia da mastite bovina (COSTA, 2008), o *Staphylococcus aureus* está presente em mais de 50% das infecções da glândula mamária dos bovinos leiteiros, devido a sua ampla distribuição geográfica (RIBEIRO JUNIOR; BELOTI, 2012).

Segundo Radostits et al. (2002) o desenvolvimento da mastite pode se dividir em três fases descritas como a fase de invasão, quando o micro-organismo penetra no canal do teto; a fase de infecção, quando os microrganismos se multiplicam e colonizam o tecido secretor da cisterna da glândula; e por fim, a fase de inflamação, que segue a infecção e representa o início do episódio de mastite, com diferentes graus de alterações do úbere e do leite.

Em resposta ao agente o organismo animal envia leucócitos para o local afetado, conseqüentemente aumenta a contagem de células somáticas (CCS) e altera a composição do leite (FONSECA; SANTOS, 2001). Na vaca saudável, as

células somáticas presentes são neutrófilos (<11%), macrófagos (66 a 88%), linfócitos (10 a 27%) e células epiteliais (0 a 7%). Em caso de infecção da glândula mamária ocorre aumento no número de leucócitos, neutrófilos migram da corrente sanguínea e representam mais de 90% das células no leite mastítico (RADOSTITS et al., 2002).

Burton e Erskine (2003) citam que as células de defesa (neutrófilos) e os anticorpos são as principais barreiras de defesa do úbere contra as infecções bacterianas, quando estes sistemas de defesa falham ou são insuficientes, surgem às mastites clínicas.

Se a resposta inflamatória for rápida, os neutrófilos movem-se rapidamente do sangue para o interior da glândula mamária e eliminam os estímulos, neste caso as bactérias. No entanto, em situações em que as bactérias sobrevivem, a resposta inflamatória contínua, com migração persistente de neutrófilos entre as células secretoras e o lúmen alveolar, a contagem de células somáticas (CCS) permanece alta (AIRES, 2010).

Em relação a sua apresentação, a mastite pode ser classificada em forma clínica, quando é possível observar ao exame físico alterações no leite e no animal, e em forma subclínica, quando são necessários métodos indiretos para o diagnóstico. Estima-se que existam 35 casos subclínicos de mastite para cada caso clínico, isso ocorre devido à dificuldade de visualização do problema subclínico, o que favorece a sua disseminação (SANTOS; PEDROSO; GUIRRO, 2010).

O diagnóstico da mastite na forma clínica é realizado pela avaliação das características do leite, com a busca pela presença de grumos e pelas alterações do parênquima glandular, como o aumento da temperatura, presença de dor, hipertemia local e enrijecimento da glândula. O diagnóstico precoce é realizado pelo teste da caneca de fundo preto, na qual examina os primeiros jatos de leite previamente a ordenha dos animais, e observa-se a presença ou não de pus, grumos de fibrina e sangue. Este teste deve ser realizado diariamente em todas as vacas e em todas as ordenhas, assim é possível realizar o tratamento precoce com maiores chances de cura, menores gastos com medicamentos e descarte de leite (SANTOS; FONSECA, 2007).

Quanto à forma subclínica, o diagnóstico é realizado pela contagem direta ou indireta de células somáticas no leite. Assim durante o período de infecção, as células somáticas aumentam de 100.000 células/ mL de leite em vacas saudáveis,

para mais de 1.000.000 células/ mL em apenas algumas horas (RADOSTITIS et al., 2002). Segundo Coentrão et al. (2008) vários fatores podem influenciar na variação da CCS, tais como o período da lactação, mês e estação do ano, porém a infecção intramamária é o principal fator.

O diagnóstico da mastite subclínica pode ser realizado pelo indicador indireto da contagem de células somáticas do leite, o *California Mastitis Test* (CMT) (RIBEIRO et al., 2003), empregado a campo no momento da ordenha, é prático, de baixo custo, de fácil interpretação e fornece resultados imediatos (JORGE et al., 2005). O teste consiste na coleta individual dos quartos mamários em bandeja apropriada, adicionando detergente aniônico neutro, que atua rompendo a membrana das células e liberando o DNA, formando gel (RIBEIRO et al., 2003). A interpretação do teste depende da intensidade da viscosidade, sendo classificado em negativa; suspeita (traços); fracamente positiva (+); positiva (++) e fortemente positiva (+++), segundo Schalm e Noorlander (1957). O teste de CMT deve ser realizado mensalmente ou em intervalos menores caso o índice de mastite esteja muito elevado no rebanho, para possibilitar a avaliação da eficiência das medidas de controle preconizadas (COSTA, 2008).

Estudo realizado por Nader Filho (1985) comprovou a eficácia do CMT, na qual constatou que 99% dos tetos reativos ao CMT, que não apresentavam sinal de mastite clínica, tiveram o diagnóstico de mastite subclínica comprovado pelo isolamento do agente etiológico.

A detecção definitiva do agente é realizada por meio do isolamento dos patógenos em cultura microbiológica, no entanto o exame apresenta limitação pelos custos e tempo requerido para obter os resultados (DELLA LIBERA et al., 2011). Entretanto, Coentrão et al. (2008) citaram a importância do diagnóstico microbiológico, pois, informa o padrão da infecção do rebanho e deste modo, auxilia no controle e erradicação de determinados patógenos.

De acordo com Radostits et al. (2002) o plano de tratamento depende do tipo de mastite, se clínica ou subclínica, da identificação correta dos agentes envolvidos, da severidade da resposta inflamatória, da duração da infecção, da quantidade de quartos afetados, do estágio de lactação, da idade do animal e da presença ou não de prenhez.

O tratamento dos animais com mastite clínica consiste principalmente no uso de antibioticoterapia (RIBEIRO JÚNIOR; BELOTI, 2012). O tratamento com

antibióticos tem por meta realizar a eliminação das infecções bacterianas que estão estabelecidas no animal, portanto é necessária que as concentrações de antibióticos no úbere atinjam níveis maiores ou pelo menos iguais a concentração inibitória mínima para os principais patógenos da mastite (BENEDETTE et al., 2008). Para Benedette et al. (2008) o ideal para o tratamento da enfermidade clínica na vaca lactante é fazer a cultura do leite e sensibilidade antimicrobiana.

Em casos agudos pode ser necessária à utilização da terapia de suporte com eletrólitos e administração de anti-inflamatórios não esteroides (RADOSTITS et al., 2002). O esvaziamento frequente da glândula mamária afetada também é recomendado no tratamento de mastite, uma vez que a ação do fluxo do leite ao longo da glândula age removendo os micro-organismos, as endotoxinas e os mediadores inflamatórios, bem como os neutrófilos e os macrófagos, cujos produtos estimulam a inflamação (REBHUN, 2000).

Nas mastites crônicas ou subclínicas, a terapia da vaca seca é recomendada, sendo o momento da secagem o mais adequado para a eliminação das infecções subclínicas existentes, pois o tratamento durante a lactação tem taxa de cura mais baixa e há a necessidade de descartar o leite com resíduos de antibióticos. Sendo assim, a função do tratamento da vaca seca é eliminar os casos de mastite subclínica existentes e prevenir a ocorrência de novas infecções nas semanas seguintes à secagem (RODRIGUES, 2009).

A aplicação de antibiótico de longa ação deve ser realizada em todos os quartos mamários no momento da secagem, podendo, em alguns casos, estar associada à terapia sistêmica (ANDREWS et al., 2008). Alguns selantes internos podem ser utilizados como coadjuvantes à terapia de vaca seca, tal como subnitrito de bismuto, que atua como uma barreira física contra os agentes infecciosos na glândula mamária (COSER, 2012).

Como métodos de prevenção a implantação de boas práticas de higiene de ordenha se faz fundamental e é um eficiente meio de se controlar as vias de transmissão da mastite (RIBEIRO JUNIOR; BELOTI, 2012).

A metodologia de controle da doença vem evoluindo nos últimos anos, passando do tratamento preventivo ou curativo do indivíduo para o plano do rebanho, com a adoção de programas mais abrangentes, aplicados ao conjunto de rebanhos da região ou do país. Esses programas têm como base a desinfecção de tetos antes e após a ordenha, o tratamento precoce de casos clínicos, a higiene

ambiental e da ordenha e a manutenção periódica do equipamento de ordenha (COSTA, 2008), também é importante à utilização da terapia da vaca seca e o descarte de vacas com infecções crônicas (BENEDETTE et al., 2008).

## **2.2. Perfil Metabólico**

O perfil metabólico em ruminantes pode ser utilizado para monitorar a adaptação metabólica e diagnosticar desequilíbrios metabólico-nutricionais (BRITO et al., 2006), desenvolvido por Payne em Compton (Inglaterra) em 1970, como método para estudar as causas da alta incidência das chamadas doenças da produção, por meio de análises sanguíneas do rebanho (ZAMBRANO e MARQUES Jr, 2009), assim como o grau de adequação as principais vias metabólicas, bem como a funcionalidade de órgãos vitais (GONZÁLEZ, 2000).

O perfil metabólico é indicador dos processos adaptativos do organismo, no metabolismo energético, proteico e mineral. Os metabolitos analisados definem o alcance da interpretação do perfil (OLIVEIRA et al., 2014). O metabolismo energético dos ruminantes avalia os níveis sanguíneos de glicose, triglicerídeos,  $\beta$ -hidroxibutirato, colesterol e ácidos graxos livres; o proteico os níveis de proteínas totais, albumina, globulinas e ureia; e o mineral os níveis de cálcio, fósforo, magnésio, ferro, cobre, zinco e cobalto (HAIDA et al., 1996; FREITAS JÚNIOR et al., 2010; MICHEL e PIANTONI, 2013).

Quando utilizado associado à história clínica, exame físico e outros testes laboratoriais, como o hemograma e o exame químico da urina, o perfil metabólico se torna importante mecanismo para estabelecer ou confirmar o diagnóstico, determinar o prognóstico e monitorar tratamento, onde sua finalidade é reconhecida e consagrada mundialmente (GONZÁLEZ, 2001; ORTUNHO e MARÇAL, 2014).

### **2.2.1 Avaliação do metabolismo energético**

#### **2.2.1.1 Glicose**

A glicose é considerada o principal combustível metabólico, sendo absolutamente necessário para a função de órgãos vitais, crescimento fetal e produção de leite (DUFFIELD; LEBLANC, 2009). Para Vendramin et al. (2006) a

glicose é de fundamental importância para as vacas leiteiras pela necessidade de sintetizar a lactose, tendo maior demanda do período inicial até ultrapassar o pico de lactação. Possui níveis de normalidade entre 45 e 75 mg/dL para a espécie bovina.

O fígado é o órgão responsável pela síntese de glicose a partir de moléculas da via gliconeolítica, como, o ácido propiônico que é o principal precursor de glicose, os aminoácidos, o ácido láctico e o glicerol (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2002).

Entretanto, a glicose não é o melhor indicador do metabolismo energético, pois possui rigoroso controle hormonal (CAMPOS et al., 2007). Porém é essencial para as necessidades energéticas do organismo, explicando assim a sua inserção no perfil metabólico (GONZÁLEZ, 2000).

Marques e Rodemacher (1999) incluíram nesse sistema hormonal a insulina que estimula a captação de glicose pelos tecidos, o glucagon e as catecolaminas que estimulam a degradação do glicogênio e os corticoesteróides que são promotores da gliconeogênese.

González e Scheffer (2002) relataram que quando o fornecimento energético é inadequado, o glucagon e as catecolaminas estimulam a degradação de glicogênio hepático e a síntese de nova glicose no fígado, e quando o balanço energético se torna negativo, estimulam a mobilização de triglicerídeos para fornecer ácidos graxos como fonte de energia e glicerol como precursor de glicose hepática.

### **2.2.1.2 Triglicerídeos**

A principal forma de armazenamento de ácidos graxos no tecido adiposo é por meio dos triglicerídeos, que são compostos por uma molécula de glicerol ligada a três moléculas de ácidos graxos de cadeia longa. Embora muitas células possam sintetizar os triglicerídeos, estes são produzidos particularmente no fígado, tecido adiposo, glândula mamária e intestino delgado (BRUSS, 2008).

Kozloski (2009) citou que em bovinos, aproximadamente 90% da síntese de ácidos graxos e triglicerídeos ocorre no tecido adiposo, tendo como principal precursor o acetato. Em vacas lactantes e que não se apresentam prenhas, cerca de um terço do acetato absorvido é armazenado em forma de triglicerídeo.

Os ruminantes apresentam baixa capacidade de síntese hepática de triglicerídeos, no entanto, após a ingestão de dietas com alta densidade energética,

ocorre aumento na produção de ácidos graxos a partir das elevadas quantidades de acetato e propionato que chegam ao fígado (BRUSS, 2008).

Para Campos et al. (2007) os triglicerídeos são fonte importante de ácidos graxos para a síntese da gordura no leite, na lactação os níveis de triglicerídeos variam de acordo com o balanço energético negativo (BEN), além do mais, sua determinação é uma alternativa na avaliação rápida da lipidose hepática, enfermidade metabólica de grandes perdas na produção leiteira.

### **2.2.1.3 Colesterol**

O colesterol é armazenado nos tecidos na forma de ésteres de colesterol sendo o precursor dos esteróides do organismo, os corticoesteróides, hormônios sexuais, ácidos biliares e vitamina D. Sua síntese ocorre a partir da acetilcoenzima A (acetil-CoA), que por sua vez, provém do ácido acético produzido no rúmen pela fermentação da fibra da dieta, dependendo do estado nutricional. Origina-se principalmente no fígado e no intestino (GRANDE; SANTOS, 2003), pode ocorrer de forma exógena, pelos alimentos (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2002).

O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. Variações na concentração sérica ou plasmática de colesterol estão relacionadas à condição nutricional dos animais. A determinação dos níveis sérico ou plasmáticos de colesterol é recomendada para avaliar o balanço energético em vacas leiteiras, pois a diminuição indica quadro de déficit energético, enquanto seu aumento ocorre em resposta à ingestão de níveis elevados de energia na forma de lipídios (WITTWER, 2000).

### **2.2.1.4 $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB)**

Os níveis séricos ou plasmáticos de corpos cetônicos são relativamente constantes nos ruminantes, dada sua origem a partir dos ácidos graxos voláteis (AGVs) produzidos na fermentação de carboidratos no rúmen. Enquanto o propionato é o principal precursor para gliconeogênese, o butirato é o principal

precursor para a cetogênese, aproximadamente 50% da quantidade de butirato absorvida no rúmen é convertida a corpos cetônicos (FERNANDES et al., 2012).

O ácido butírico proveniente da dieta é transformado no epitélio dos pré-estômagos, via acetoacetato, em  $\beta$ HB, sendo este o principal corpo cetônico do sangue dos ruminantes. Por outro lado, os ácidos graxos de cadeia longa, produzidos na mobilização de reservas de gordura, são convertidos no fígado em acetoacetato e depois em  $\beta$ HB, o qual pode ser utilizado como fonte de energia e na síntese de gordura no leite (WITTEWER, 2000).

Os corpos cetônicos são compostos primários os quais são representados pelo  $\beta$ -hidroxibutirato, o acetoacetato e a acetona (ORTOLANI, 2002). O  $\beta$ HB é o corpo cetônico produzido em maior quantidade e o de escolha para a avaliação clínica, indicador do distúrbio metabólico energético, devido a sua estabilidade no plasma ou no soro, e por não possuir controle homeostático tão estreito como a glicose (CARVALHO, 2013). Os demais corpos cetônicos como o acetoacetato apresenta elevada instabilidade reativa, que se decompõe em acetona e dióxido de carbono, a acetona possui alta volatilidade o que a torna pouco útil na rotina diagnóstica (DUFFIELD, 2000).

Níveis séricos ou plasmáticos de  $\beta$ HB indicam a magnitude do BEN de animais em situações de alta demanda por glicose, e a eficiência de utilização dos ácidos graxos mobilizados no processo de lipólise, sendo assim, para avaliar a intensidade do BEN recomenda-se que os níveis de glicose e o escore de condição corporal sejam avaliados junto aos níveis de  $\beta$ HB (FERNANDES et al., 2012).

Segundo Grande e Santos (2003) a determinação de  $\beta$ HB em amostras de sangue tem sido utilizada com sucesso nos perfis metabólicos, tendo essa técnica um nível de detecção de 0,1 mmol/L, considerando-se como valor máximo aceitável de 0,5 mmol/L, exceto em vacas no início da lactação, nas quais se aceita até 0,8 mmol/L.

### **2.2.1.5 Ácidos graxos não esterificados (NEFA)**

Os ácidos graxos não esterificados (NEFA) ou ácidos graxos livres, em ruminantes, respondem rapidamente às mudanças do consumo do alimento. Estes ácidos graxos são utilizados para a produção de energia pela via da  $\beta$ -oxidação no fígado, no tecido muscular esquelético e no coração (BRUSS, 2008).

Segundo Fernandes et al. (2012) os níveis séricos ou plasmáticos de NEFA têm relação direta com o processo de lipólise do tecido adiposo. Os NEFA são produtos da hidrólise dos triglicerídeos depositados nos adipócitos, sendo liberados na circulação e transportados pela albumina. Assim, o seu transporte é dependente da molécula de albumina não saturada, dessa forma sua carência ou sua saturação por NEFA leva a reesterificação ou acúmulo de ácidos graxos nos adipócitos. No período absorptivo, esses ácidos graxos que chegam ao fígado podem ser incorporados às lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e liberados na circulação, assim estes podem ser direcionados por duas rotas metabólicas: quando o animal tem sua demanda energética atendida, os ácidos graxos são armazenados na forma de triglicerídeos no tecido adiposo, por outra ocasião, se a demanda não for suprida, os ácidos graxos são oxidados para produzir energia e transportados aos tecidos periféricos.

O aumento da concentração de NEFA inicia-se duas a três semanas antes do parto e continua durante o pós-parto inicial, associado ao acúmulo hepático de triglicerídeos e aumento da produção de corpos cetônicos (GARCIA, 2010). Para Melendez e Risco (2005) as concentrações são máximas ao parto (0,9 a 1,2 mEq/L), com diminuição lenta depois do terceiro dia pós-parto.

O NEFA é bastante sensível a graus moderados de déficit energético, tendo, entretanto menos utilidade em situações prolongadas de balanço energético negativo, sendo o  $\beta$ HB mais recomendado (GONZÁLEZ, 2000).

### **2.2.2 Avaliação dos níveis de cálcio total**

O cálcio é o mineral mais abundante do organismo bovino, corresponde a 1,5% do peso do animal, sendo 99% encontrado nos ossos e dentes, e o restante distribuído nos fluídos extracelulares e tecidos moles, exceto na gordura (HADDAD; ALVES, 2006; WILKENS et al., 2012). O cálcio é um macroelemento essencial na formação do esqueleto, coagulação do sangue, regulação do ritmo cardíaco, excitabilidade neuromuscular, ativação enzimática e permeabilidade de membranas (BARRÊTO JÚNIOR et al., 2011).

No plasma, existem duas formas, a livre ionizada (cerca de 45%) e a orgânica, associada a moléculas como proteínas, principalmente albumina (cerca de 45%) ou ácidos orgânicos (cerca de 10%). O cálcio total, forma como é medido no

sangue, as duas formas encontram-se em equilíbrio e a distribuição final depende de fatores como pH, concentração de albumina e da relação ácido-base. Em caso de acidose aumenta a forma ionizada de cálcio e na hipoalbuminemia ocorre diminuição do valor de cálcio sanguíneo (GONZÁLEZ, 2000).

A homeostase do cálcio em mamíferos é mantida por meio de um complexo processo envolvendo a interação do paratormônio (PTH), vitamina D<sub>3</sub> e a calcitonina e sistemas orgânicos, como as glândulas paratireoides, células-C tireoidianas, rins, ossos e intestino. Quando ocorrem alterações na concentração de cálcio, as células sensíveis a essa mudança reconhecem por intermédio do receptor de cálcio, resultando na ativação da resposta homeostática, com a finalidade de normalizar o nível de cálcio (HADDAD; ALVES, 2006).

O PTH é o principal hormônio implicado na homeostasia do cálcio, exerce função biológica de forma direta nas células-alvo dos ossos e dos rins, e de forma indireta no intestino. Este hormônio é caracterizado pela mobilização de cálcio dos ossos, com um efeito rápido, onde ativa os osteócitos e osteoclastos existentes (GUYTON; HALL, 2000). Além de ativarem os receptores nas células renais e estimularem a síntese de Vitamina D<sub>3</sub>, o qual resulta em maior absorção intestinal e reabsorção renal (SANTOS, 2011).

Outro hormônio importante, a calcitonina, é secretada pelas células C da tireoide, no entanto esse age de forma antagônica ao PTH, reduzindo a concentração de cálcio nos fluidos extracelulares, ou seja, fazendo a deposição de cálcio nos ossos (GUYTON; HALL, 2000, SCHAFHÄUSER Jr., 2006).

## **2.3 Alterações metabólicas e sua correlação com a mastite**

### **2.3.1 Hipocalcemia**

A hipocalcemia, também conhecida como febre do leite, febre vitular ou paresia puerperal é um distúrbio metabólico que acomete principalmente vacas de leite de alta produção (CONEGLIAN; FLAIBAN; LISBÔA, 2014). Essa alteração metabólica ocorre pela mudança na demanda de cálcio pelos compartimentos corporais, que se faz necessária para suprir os gastos gerados pela produção do colostro, esforço da parição e o início da lactação (ESNAOLA, 2011). Ortolani (1995)

citou que a concentração de cálcio no colostro (2,2g/L) é duas vezes maior que no leite comum (1,1g/L), principalmente nas primeiras 24 horas após o parto.

Weiller et al. (2015) reportaram que há uma variação no requerimento de cálcio de uma vaca no periparto. No pré-parto, as necessidades são de aproximadamente 30 gramas/dia, sendo direcionada para a glândula mamária e feto. Além da mobilização de cálcio para a manutenção do animal, para o feto, produção de colostro e leite, há ainda perdas urinárias (0,5 g/dia) e fecais (5-8 g/dia).

Existem vários motivos que comprometem o bom funcionamento do sistema regulador do cálcio, o que gera quadros de hipocalcemia, pode destacar o desequilíbrio cátion-aniônico durante o período de transição, ou seja, as três semanas antes do parto até três semanas pós-parto. Isso acontece quando a proporção de cátions é maior no sangue e leva a alcalinização do pH, diminuindo a capacidade de ligação entre o PTH aos seus receptores no tecido ósseo e renal (NETO et al., 2011).

Essa hipocalcemia pode ser na forma clínica, onde os animais apresentam disfunção neuromuscular com paralisia flácida, colapso circulatório, depressão e até a morte caso não seja realizado o tratamento; ou na forma subclínica, que em geral, apresenta uma diminuição na produtividade e redução do consumo de matéria seca (ESNAOLA, 2011). A hipocalcemia subclínica, pela dificuldade de diagnóstico e ausência de tratamento, ocasiona maiores prejuízos à pecuária leiteira (HUF et al., 2015).

Para Schmitt, Rabassa e Corrêa (2010) valores abaixo de 5 mg/dL indicam forma clínica e entre 5 e 8 mg/dL a forma subclínica. Valores normais de cálcio em vacas leiteiras varia de 8,5 a 10 mg/dL.

No Brasil a frequência de hipocalcemia foi estudada por Ortolani (1995) em rebanho de vacas da raça Holandesa e Girolando, no estado de São Paulo, encontrou incidência de 4,25%, com taxas de mortalidade de 0,54%.

A relação entre a hipocalcemia e a mastite é grande, pois, a baixa concentração de cálcio afeta a contração da musculatura do esfíncter do teto depois da ordenha, possibilitando a entrada de patógenos para o interior da glândula mamária (STORCK, 2003; GOFF; LIESEGANG; HORST, 2014). De acordo com Goff e Kimura (2002) vacas com hipocalcemia são 8,1 vezes mais propensas a desenvolver mastite, pois vacas com hipocalcemia tendem a permanecer mais

tempo deitadas, isso pode aumentar a exposição do teto aos patógenos ambientais oportunistas.

Vacas leiteiras no periparto reduzem o armazenamento intracelular de cálcio, o que diminui a capacidade das células de defesa em responder a estímulos de ativação e conseqüentemente a resposta imune da glândula mamária (GOFF; KIMURA, 2002; STORCK, 2003).

Geralmente nas primeiras 72 horas após o parto, a maioria das vacas sofre algum grau de hipocalcemia devido à grande mobilização de cálcio do sangue para a produção do colostro e leite. Deste modo, quando os níveis sanguíneos de cálcio estão baixos, ocorre à liberação de cortisol, hormônio com ação imunossupressora, favorecendo os processos infecciosos como a mastite (SILVEIRA et al., 2009). Vacas em início de parto aumentam a concentração de cortisol de três a quatro vezes, e vacas com hipocalcemia subclínica, o aumento pode ser de cinco a sete vezes e nas com hipocalcemia clínica a elevação chega a 10 a 15 vezes antes do parto (Goff; Kimura, 2002).

### **2.3.2 Cetose**

A cetose é um transtorno comum nos rebanhos leiteiros, definida como desordem do metabolismo de carboidratos, das gorduras e caracterizada pelo incremento de corpos cetônicos (acetona, acetoacetato, beta-hidroxibutirato) no sangue, associada ao BEN e que ocorre nas primeiras semanas pós-parto, principalmente em vacas de alta produção e elevado escore corporal (CAMPOS et al., 2005).

Segundo Souza et al. (2012) vacas no período de transição tem aumento na demanda energética, que associado com a redução da ingestão de matéria seca leva ao quadro de BEN, assim, os NEFA são mobilizados e direcionados para o fígado para ser utilizados como fonte energética. Quando a mobilização de NEFA é excessiva, as vias de oxidação e armazenamento de triglicerídeos são saturadas, fazendo com que os ácidos graxos sejam oxidados parcialmente e formem cetonas (corpos cetônicos). Estes são liberados na corrente sanguínea dando origem aos quadros de cetose.

De acordo com Barbosa et al. (2009) a enfermidade pode ser classificada como clínica ou subclínica, segundo a origem, sinais clínicos, prevalência e curso da doença. A forma subclínica, pode chegar a 34%, e a forma clínica atinge 7%.

A cetose clínica é caracterizada pela diminuição da produção de leite, perda de peso, prostração, odor de acetona no hálito e na urina, letargia, fezes secas, perda de apetite e pode evoluir para o óbito (REBHUN, 2000). Van Cleef (2009) classificou a cetose clínica em três tipos: primária, secundária e alimentar. Na cetose primária, a vaca não recebe a quantidade adequada de alimentos. Na secundária, a ingestão de alimentos é diminuída em consequência de outra enfermidade e na alimentar, a ingestão é rica em precursores cetogênicos.

A cetose subclínica é o estágio inicial da enfermidade, não apresenta alterações clínicas, mas tem elevação dos corpos cetônicos sanguíneos. As alterações mais observadas são: hipoglicemia e cetonemia por aumento do  $\beta$ HB (SOUZA et al., 2012).

O diagnóstico é realizado pelas manifestações dos sinais clínicos, indigestão e sintomas neurológicos, histórico do pós-parto e por exames laboratoriais por meio da detecção dos corpos cetônicos na urina, leite ou plasma (NANTES; SANTOS, 2008).

Segundo Sousa (2013) a relação da cetose seja na forma clínica ou subclínica e o seu efeito no desenvolvimento de mastites não é clara e por vezes é controversa. No entanto, Suriyasathaporn et al. (2000) associaram a deficiente atuação dos leucócitos, em vacas com hipercetonemia, ao desenvolvimento da mastite clínica. Duffield (2000) também relacionou ambas enfermidades, o risco de desenvolver a mastite chega a ser 40 vezes maior em vacas com cetose.

Kremer et al. (1993) induziram mastite experimental por *Escherichia coli* em vacas com balanço energético negativo por restrição alimentar e observaram que a mastite foi de moderada a grave em vacas sem cetose, em contrapartida todas as vacas com cetose apresentaram grau grave.

Estudos feitos por Melendez et al. (2009) demonstraram que vaca com concentrações de NEFA acima de 0,93 mEq/L, no dia do parto, tem 2,52 vezes mais probabilidade de desenvolver mastite clínica durante a lactação.

Vacas cetogênicas apresentam menor capacidade de fagocitose por células polimorfonucleares e macrófagos, além de ter menor produção de citocinas (interferons, interleucinas e fator de necrose tumoral) pelos linfócitos, dessa forma à

menor migração de leucocitos para a glandula mamária (LESLIE et al., 2000).

### 3. REFERÊNCIAS

- AIRES, T. A. C. P. **Mastites em Bovinos: caracterização etiológica, padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade do leite em explorações do Entre-Douro e Minho.** 2010. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2010.
- ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos.** 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. 1080p.
- BARBOSA, J. D.; SILVA, N. S.; PINHEIRO, C. P.; SILVEIRA, J. A. S.; OLIVEIRA, C. H. S.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, M. D. Cetose nervosa em bovinos, diagnosticada pela Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará, no período de 2000 a 2009. **Ciência Animal Brasileira** –Suplemento 1, 2009.
- BARRÊTO JÚNIOR, R. A.; MINERVINO, A. H. H.; RODRIGUES, F. A. M. L.; MEIRA JÚNIOR, E. B. S.; FERREIRA, R. N. F.; LIMA A. S.; MORI, C. S.; BARROS, I. O.; ORTOLANI, E. L. Avaliação do quadro clínico e perfil bioquímico de bovinos durante indução e tratamento de hipocalcemia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 192-199, 2011.
- BENEDETTE, M. F.; SILVA, D.; ROCHA, F. P. C.; SANTOS, D. A. N.; COSTA, E. A. D.; AVANZA, M. F. B. Mastite Bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária.** Ano 6, n. 11, 2008.
- BRITO, M. A.; GONZÁLEZ, F. D.; RIBEIRO, L. A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.; BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.942-948, 2006.
- BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals.** 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. p.81-115.
- BURTON. J. L.; ERSKINE, R. J. **The Veterinary Clinics – Food Animal Practice**, v. 19, p1-45, 2003.
- CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Determinação de corpos cetônicos na urina como ferramenta para o diagnóstico rápido de cetose subclínica bovina e relação com a composição do leite. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 49-54, 2005.
- CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 241-249, 2007.

CARVALHO, C. T. G. **Perfil metabólico e desempenho produtivo de ovelhas Santa Inês suplementadas com ionóforo durante o período de transição**. 2013. 75 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão- Sergipe, 2013.

CASSOL, D. M. S.; SANDOVAL, G. A. F.; PERÍCOLE, J. J.; GIL, P. C. N.; MARSON, F. A.. Mastite bovina. **A Hora Veterinária**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 175, p.27-31, 2010.

COENTRÃO, C. M.; SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; LILENBAUM, W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.283-288, 2008.

CONEGLIAN M. M., FLAIBAN K. K. M. C.; LISBÔA J. A. N. Hipocalcemia não puerperal em vacas leiteiras sob pastejo de aveia e azevém: estudo de fatores predisponentes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n.1, p.15-23, 2014.

COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G.M. **Mastite bovina: controle e prevenção**. Boletim Técnico- Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2012.

COSTA, G. M.; SILVA, N.; ROSA, C. A.; FIGUEIREDO, H. C. P.; PEREIRA, U. P. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1938-1942, 2008.

CRUZ, C.E.F.; RAYMUNDO, D. L.; CERVA, C.; PAVARINI, S. P.; DALTO, A. G. C.; CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D. Records of performance and sanitary status from a dairy cattle herd in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.1, p. 1-9, 2011.

CUNHA, A.P.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W; SILVA, D. R.; OLIVEIRA, A. A. DA F.; SILVA, K. P. C.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastite clínica e subclínica de búfalas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.17-21, 2006.

DELLA LIBERA, A. M. M. P.; SOUZA, F. N.; BLAGITZ, M. G.; BATISTA, C. F. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.2, p.297-300, 2011.

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v.1, n.1, p.23-27, 2007.

DUFFIELD, T. F., LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. **Anais... Southwest Nutrition and Management Conference**. p. 106-114. 2009.

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics of North America: FoodAnimal Practice**, Philadelphia, n. 16, p. 231-254, 2000.

ESNAOLA, G. S. **Controle da hipocalcemia puerperal em bovinos leiteiros**. 2011. p. 44. Monografia (Medicina Veterinária), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

FERNANDES, S. R.; FREITAS, J. A.; SOUZA, D. F.; KOWALSKI, L. H.; DITTRICH, R. L.; JUNIOR, P. R.; SILVA, C. J. A. Lipidograma como ferramenta na avaliação do metabolismo energético em ruminantes. **Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.18, n.1-4, p.21-32, 2012.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos, 2001. 175p.

FREITAS JÚNIOR, J. E.; RENNÓ, F. P.; SILVA, L. F. P.; GADRAL, J. R.; FILHO, M. M.; FODITSCH, C.; VENTURELLI, B. C. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.4, p.950-956, 2010.

GARCIA, A. M. B. **Avaliação metabólica de vacas leiteiras submetidas a diferentes estratégias de prevenção do balanço energético negativo no pós-parto**. 2010. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

GOFF, J. P.; LIESEGANG, A.; HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia and milk fever risk factor. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 1, p. 1-9, 2014.

GOFF, J. P.; KIMURA, K. Metabolic Diseases and Their Effect on Immune Function and Resistance to Infectious Disease. **Anais...Proceedings of the 41 st Annual Meeting of National Matistis Council**. 2002.

GONZÁLEZ, F. H. D. Perfil metabólico em bovinos: alcance y utilidad. **Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia**, V.3, n.3, p. 45-52, 2001.

GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H., RIBEIRO, L. A. O. (Eds) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porta Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: Avaliação metabólica nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais (sangue, leite e urina). **Anais... 29ª Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Gramado, Brasil. 2002.

GRANDE P. A.; SANTOS T. G. Uso do perfil metabólico na nutrição de vacas leiteiras. **Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudos da Cadeia Produtiva do Leite**. 2003. Disponível em: <http://www.nupel.uem.br/perfilmetabolico-vacas.pdf> Acessado em: 07 de maio de 2014.

GUERSON, Y. B. **Fatores que interferem na composição do leite de vacas mestiças na região do Caparaó- ES**. 2015. 75 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre. 2015.

GUIMARÃES, F. F.; LANGONI, H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. **Veterinária e Zootecnia**, p. 38-51, v. 16, n.1, 2009.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. Parathyroid hormone, calcitonin, calcium and phosphate metabolism, vitamin D, bone, and teeth. **Medical Physiology**, 10<sup>a</sup> Ed. USA: W.B. Saunders Company. 2000.

HADDAD, C. M.; ALVES, F. V. Novos Conceitos e Tecnologias na Suplementação Mineral de Bovinos. **Anais... II Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal**. São Paulo, SP. 2006 .

HAIDA, K. S.; GONZÁLEZ, F. H. D.; PARZIANELLO, N.; LANGER, C. F.; ZANOLLA, N.; FIGUR, K. C.; BORG, L. Estudo do perfil metabólico de um rebanho leiteiro do oeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.17, n.1, p. 72-76, 1996.

HUF, L. F.; GUYOTI, V. M.; BRAGANÇA, J. F. M.; ROCHA, J. F. X.; BENNEMANN, P. E.; ROCHA, R. X. Colesterol e beta-hidroxibutirato sérico em vacas com hipocalcemia subclínica. **Archives of Veterinary Science**, v.20, n.2, p.01-05, 2015.

JACQUES, F. E. S. **Hipocalcemia puerperal em vacas de leite**. 2011. p. 22. Monografia (Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

JORGE, A. M.; ANDRIGHETTO, C.; STRAZZA, M. R. B.; CORREA, R. C.; KASBURGO, D. G.; PICCININ, A.; VICTÓRIA, C.; DOMINGUES, P. F. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do Leite de Búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2039-2045, 2005.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2.ed. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 2009. 216p.

KREMER, W. J.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; GROMMERS F.J.; SCHUKKEN, Y. H., HEERINGA, R.; BRAND, A.; BURVENICH, C. Severity of Experimental Escherichia coli Mastitis in Ketonemic and Nonketonemic Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3428–3436, 1993.

LAGO, E. P.; COSTA, A. P. D.; PIRES, A. V.; SUSIN, I. ; FARIAS, V. P.; LAGO, L. A. Parâmetros metabólicos em vacas leiteiras durante o período de transição pós-parto. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 1/2, p. 98-103, 2004.

LeBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p.29–35, 2010.

LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F.; SCHUKKEN, Y. H.; LEBLANC, S. J. The influence of negative energy balance on udder health. **Anais... National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings**, 2000.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Plano mais Pecuária. 2014.** Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Ministerio/Publicacao\\_v2.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/Publicacao_v2.pdf) Acessado em: 10 de julho de 2015.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Projeções do Agronegócio.** 2013. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/projecoes%20-%20versao%20atualizada.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/projecoes%20-%20versao%20atualizada.pdf) Acessado em: 10 de julho de 2015.

MARQUEZ, A. C.; RADEMACHER, M. A. **indicadores bioquímicos sanguíneos de los desequilíbrios energéticos em ganado lechero.** In: Memórias Del Seminário Internacional em Reproducción y Metabolismo de La Vaca Lechera. Universidad de Caldas, Facultad Agropecuarias. Manizales, Colombia. 1999.

MARTINS, R. P.; SILVA J. A. G.; NAKAZATO L.; DUTRA V.; ALMEIDA FILHO E. S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n., p.181-187, 2010.

MELENDEZ, P., MARIN, M., ROBLES, J., RIOS, C., DUCHENS, M., ARCHBALD, L. Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 72, p.826-833, 2009.

MELENDEZ, P., RISCO, C. A. Management of Transition Cows to Optimize Reproductive Efficiency in Dairy Herds. **Veterinary Clinics Food Animal**, v. 21 p.485–501. 2005.

MICHEL, S.; PIANTONI, P. Metabolic Control of Feed Intake. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**.v.29, n.2, p.279-297, 2013.

NADER FILHO, A . Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 2, p. 53-56, 1985.

NANTES, J. H.; SANTOS, T. A. B. CETOSE - Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. 2008.

NETO, A. C.; SILVA, J. F. C.; DEMINICIS, B. B.; FERNANDES, A. M.; JARDIM, J. G.; AMORIM, M. M.; FILHO, C. C. G. Problemas metabólicos provenientes do manejo nutricional incorreto em vacas leiteiras de alta produção recém-paridas. **Revista electrónica de Veterinaria**, v.12, n. 11, 2011.

OLIVEIRA, A. A.; MELO, C. B.; AZEVEDO, H. C. Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 226-230, 2009.

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**, Goiânia, v.15, n.1, p. 81-86, 2014.

OLIVEIRA, U. V.; GALVÃO, G. S.; PAIXÃO, A. R. R.; MUNHOZ, A. D. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.3, p.630-640, 2010.

ORTOLANI, E. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais. **Anais... 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Gramado, Brasil. 2002.

ORTOLANI, E. L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia de vacas leiteiras. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 47, n. 6, p. 799-808, 1995.

ORTUNHO, V. V.; MARÇAL, W. S. Perfil proteico de fêmeas ovinas suplementadas com minerais. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 08, n. 1, p. 189-205, 2014.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1772 p.

REBHUN, W. C. et al. **Doenças do Gado Leiteiro**. São Paulo: Roca, 642p. 2000.  
RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; BELOTI, V. Mastite bovina e seu reflexo na qualidade do leite – Revisão de Literatura. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência**. v. 2, n. 2, 2012.

RIBEIRO, M. E. R.; PETRINI, L. A.; AITA, M. F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JR, W.; GOMES, J. F.; SCHRAMM, R. C.; MARTINS, P. R.; BARBOSA, R. S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n.3, p.287-290, 2003.

RODRIGUES, A. R. O. **Influência da mastite na qualidade do leite in natura: Revisão de Literatura**. 2009. 40 p. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Rural do Semiárido, Pernambuco, Recife, 2009.

SANTOS, J. E. P. Doenças metabólicas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Distúrbios metabólicos. Nutrição de Ruminantes**, 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011.

SANTOS L. L., PEDROSO T. F. F.; GUIRRO E. Perfil etiológico da mastite bovina na bacia leiteira de Santa Izabel do Oeste, Paraná. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p.860-866, 2010.

SANTOS, M.V; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, 2007. 314p.

SCHAFHÄUSER JR, J. O balanço de cátions e ânions em dietas para vacas leiteiras no período de transição. **Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia**. Uruguaiana, v.13, n.1, p. 112-127. 2006.

SCHALM, A. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to developments and the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-207, 1957.

SCHMITT, E.; RABASSA, V.; CORRÊA, M. N. **Transtornos clínico metabólicos em vacas leiteiras no período de transição: uma introdução ao tema**. Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária - NUPEEC Faculdade de Veterinária – Programa de Pós-Graduação em Veterinária Universidade Federal de Pelotas – RS, 2010. Disponível em: [www.ufpel.edu.br/nupeec](http://www.ufpel.edu.br/nupeec); Acesso em 17de setembro de 2014.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.;TONI, L.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 161-169, jan./mar. 2008.

SILVEIRA, P. A. S.; FENSTERSEIFER, S.; PEREIRA, R. A.; SCHNEIDER , A.; BIANCHI, I.; CORRÊA, M. N. Impacto Econômico das Doenças do Periparto de vacas leiteiras. **Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária**. Pelotas, 2009.

SOUSA, E. A. L. **Influência do tratamento da cetose subclínica em vacas leiteiras no início de lactação**. 83p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2013.

SOUZA, R. C.; SOUZA, R. C.; COSTA, H. N.; SALIM, F. N.; SILVA, F. D. Cetose Bovina. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, p. 10-13, 2012.

STORCK, D. J. **Utilização de dietas aniônicas como prevenção de hipocalcemia em vacas de leite**. 2013. p. 31. Monografia (Medicina Veterinária), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2013.

SURIYASATHAPORN, W.; HEUER, C.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; SCHUKKEN, Y. H. Hyperketonemia and the impairment udder defense: A review. **Veterinary Research**, v.31, p. 397–412, 2000.

USDA - **United States Departamento of Agriculture**. 2015. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/> Acessado em: 08 de julho de 2015.

VAN CLEEF, E. H., Distúrbios metabólicos por manejo alimentar inadequado em ruminantes: novos conceitos, **Revista Colombiana de Ciência Animal**. v.1, n.2, p. 319-341. 2009.

VENDRAMIN, L.; ROOS, T. B.; LIMA VERDE, P. M.; SCHWEGLER, E.; GOULART, M. A.; QUEVEDO, P. S.; SILVA, V. M.; DEL PINO, F. A. B.; TIMM, C. D.; Gil TURNES, C.; CORRÊA, M. N. Condição metabólica e composição do leite de rebanhos de vacas Jersey no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **XV Congresso de Iniciação Científica e VIII Encontro de Pós-Graduação** - Universidade Federal de Pelotas. 2006.

WEILLER, M. A. A.; FEIJÓ, J. O. ; PEREIRA, R. A.; CORREA, M. N.; DEL PINO, F. A. B.; RABASSA, V. R.; BRAUNER, C. C. Hipocalcemia subclínica e sua relação com a imunidade em vacas leiteiras: Uma revisão. **Science and Animal Health**. v.3, n.1, p. 78-93, 2015.

WILKENS, M. R.; OBERHEIDE, I.; SCHRÖDER, B.; AZEM, E.; STEINBERG, W.; BREVES, G. Influence of the combination of 25- hydroxyvitamin D-3 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.

WITTWER, F. **Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos**. In González, F. H. D.; Barcellos, J. O.; Ospina, H., Ribeiro, L. A. O. (Eds) Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

ZAMBRANO, W. J.; MARQUES JR, A.P. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras do pré-parto ao quinto mês da lactação. **Zootecnia Tropical**, v. 27, p. 475-488. 2009

#### 4. CAPÍTULO 1

### CORRELAÇÃO ENTRE A CETOSE E A OCORRÊNCIA DE MASTITE EM VACAS LEITEIRAS NA REGIÃO DO CAPARAÓ-ES.

**Resumo-** A cetose é uma alteração metabólica que acomete principalmente vacas leiteiras de alta produção, na maioria dos casos a enfermidade se apresenta em quadros subclínicos e o diagnóstico é realizado por meio de testes laboratoriais, principalmente pela concentração sérica de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB). O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre a cetose subclínica e a ocorrência de mastite em vacas leiteiras na região do Caparaó-ES. Foram utilizadas 391 vacas mestiças (Holandês x Zebu) de aptidão leiteira, em diferentes estágios de lactação de 29 propriedades. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, grupo 1 com 134 vacas portadoras de cetose subclínica com níveis séricos de  $\beta$ HB acima de 0,8 mmol/L e o grupo 2 com 73 vacas com níveis séricos de  $\beta$ HB abaixo de 0,5 mmol/L. A mastite foi diagnosticada pelos testes da caneca de fundo preto e *California Mastitis Test*. Foram mensurados os valores séricos dos ácidos graxos não esterificados (NEFA),  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB), colesterol e triglicerídeos por aparelho bioquímico automático Mindray bs 120® e a glicose em glicosímetro portátil com sangue total no momento da coleta, e correlacionados com a presença de mastite (M), presença de mastite clínica (MC), presença de mastite subclínica (MSC), número de tetos com mastite subclínica (MSCtetos) e a gravidade da mastite subclínica (MSCgrav). As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistical Analysis System (SAS) versão 8.0. Foram efetuadas análise de variância, seguidas pelo teste de Tukey e Coeficiente de Correlação de Pearson. Das vacas avaliadas 4,85% apresentaram mastite clínica e 44,50 % mastite subclínica, enquanto a cetose subclínica a ocorrência foi de 34,27%. Os valores médios do  $\beta$ HB para o grupo cetogênico foi de 1,24 mmol/L e para o grupo sem cetose de 0,41 mmol/L. Não foram encontradas correlação entre a cetose subclínica com a M ( $r=0,03$ ), MC ( $r=0,00$ ), MSC ( $r=0,03$ ), MSCtetos ( $r=-0,03$ ) e MSCtetos ( $r=0,02$ ).

**Palavras chaves:**  $\beta$ -hidroxibutirato; corpo cetônico; distúrbio metabólico

## **CORRELATION BETWEEN KETOSIS AND MASTITIS OCCURING IN DAIRY COWS IN CAPARAÓ-ES REGION.**

**Abstract-** Ketosis is a metabolic disorder that affects mainly dairy cows of high production, in most cases the disease is subclinical and the diagnosis is made through laboratory tests, primarily by serum concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate. The aim of this study was to evaluate the relationship between subclinical ketosis and mastitis in dairy cows in Caparaó-ES region. 391 crossbred cows were used (Holstein x Zebu) of milk aptitude in different stages of lactation 29 properties. The animals were divided into two experimental groups, Group 1: 134 cows suffering from subclinical ketosis with serum  $\beta$ HB above 0.8 mmol / L and Group 2: Control with 73 cows with serum  $\beta$ HB below 0.5 mmol / L. The mastitis was diagnosed by tests for black background Mug and California Mastitis Test. The serum were measured amounts of non-esterified fatty acids (NEFA), beta-hydroxybutyrate ( $\beta$ HB), cholesterol and triglycerides by automatic biochemical machine Mindray bs 120® and glucose in portable glucometer with whole blood at the time of collection, and correlated with the presence of mastitis (M), presence of clinical mastitis (CM), presence of subclinical mastitis (MSC), ceilings numbers with subclinical mastitis (MSCtetos) and the severity of the subclinical mastitis (MSCgrav). Statistical analyzes were performed using the Statistical Analysis System (SAS) version 8.0. Analysis of variance were performed, followed by Tukey test and Pearson correlation coefficient. The evaluated cows have clinical mastitis 4.85% and 44.50% subclinical mastitis, ketosis while subclinical occurrence was 34.27%. The mean values for the  $\beta$ HB ketogenic group was 1.24 mmol / L and without ketosis group 0.41 mmol / L. No correlation was found between the sub-clinical ketosis with M ( $r = 0.03$ ), MC ( $r = 0.00$ ), MSC ( $r = 0.03$ ), MSCtetos ( $r = -0.03$ ) and MSCtetos ( $r = 0.02$ ).

**Key words:**  $\beta$ -hydroxybutyrate; ketone body; metabolic disorder

## **INTRODUÇÃO**

A produtividade do rebanho nacional aumenta a cada ano em virtude da apurada seleção genética, melhorias nas condições nutricionais, sanitárias, nos sistemas de manejo e nas instalações, em contrapartida, o metabolismo é

pressionado e exigido ao limite para conseguir altos índices produtivos, manter a saúde e demais processos fisiológicos do animal, acentuado principalmente no período de transição (MOREIRA, 2013).

Dentre as ferramentas utilizadas para avaliação dos distúrbios metabólicos e fisiológicos está o perfil metabólico que segundo Zambrano e Marques Jr (2009) serve para avaliar as causas e a incidência de doenças ligadas à produção, possibilita o diagnóstico pré-sintomático de alterações metabólicas e a avaliação do “status” nutricional do rebanho.

A cetose é uma alteração metabólica que acomete principalmente vacas leiteiras de alta produção, caracterizada pela desordem de carboidratos, gorduras e aumento nos níveis sanguíneos de corpos cetônicos (acetona, acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato). Pode ser classificada como clínica e subclínica, sua principal causa é o desbalanço energético, denominado balanço energético negativo (BEN) que ocorre nas primeiras semanas pós-parto (CAMPOS, 2005).

Segundo Barbosa et al. (2009) na maioria dos casos a enfermidade é subclínica, com ocorrência de 34%, enquanto a forma clínica chega a apenas 7%, acreditam que as perdas econômicas ocasionadas pela cetose subclínica superem as perdas ocasionadas pela cetose clínica.

O diagnóstico da cetose é realizado pelo histórico, sintomatologia clínica e testes laboratoriais. O histórico apresentado são vacas recém-paridas ou em pico de produção, com redução de apetite e da ingestão de concentrados, perda de peso e queda na produção de leite. O diagnóstico laboratorial ocorre pela determinação de corpos cetônicos no sangue, urina e leite, sendo o padrão mais confiável a dosagem de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB) no soro ou plasma (SOUZA et al., 2012), devido sua maior estabilidade (CARVALHO, 2013). O valor máximo aceitável é de 0,5 mmol/L, exceto em vacas no início da lactação nas quais se aceita até 0,8 mmol/L (GRANDE; SANTOS, 2003).

Quadros de cetose podem gerar problemas concomitantes como é o caso da mastite, inflamação da glândula mamária que gera elevados prejuízos econômicos a toda cadeia produtiva do leite. Duffield (2000) relacionou ambas as enfermidades e relatou que o risco de desenvolver a mastite chega a ser 40 vezes maior em vacas com cetose, assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da cetose subclínica na ocorrência de mastite em vacas leiteiras na região do Caparaó, Estado do Espírito Santo, Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado em sete municípios (Íluna, Ibitirama, Dolores do Rio Preto, Divino de São Lourenço, Guaçuí, Muniz Freire e Jerônimo Monteiro) da região do Caparaó Capixaba situado ao Sul do estado do Espírito Santo, entre as latitudes de 20°35' e 21°45' S e longitude de 41°31' e 41°55'. Durante o período experimental que ocorreu entre fevereiro a julho de 2015, a temperatura variou entre 20 e 32°C e a precipitação pluviométrica acumulada mensal média foi de 70 mm segundo dados do Incaper (2015).

Foram selecionadas 391 vacas mestiças (Holandês x Zebu) de aptidão leiteira, em diferentes estágios de lactação, oriundas de 29 propriedades. Todos os animais estavam submetidos a regime de manejo e alimentação semelhantes, sendo todas as propriedades acompanhadas por um programa de assistência técnica especializada, da qual o sistema de manejo utilizado foi o de produção intensiva em sistema de piquetes rotacionados, água *ad libitum* e com a realização de duas ordenhas diárias. Aos produtores rurais foram aplicados questionários sobre os manejos nutricionais e sanitários de suas propriedades.

A mastite clínica foi identificada por meio dos sinais clínicos (inspeção e palpação) e teste da caneca de fundo escuro, e a mastite subclínica diagnosticada pelo teste de CMT (California Mastitis Test) e suas reações interpretadas em reação completamente negativa; reação fracamente positiva (+); reação positiva (++) e reação fortemente positiva (+++), de acordo com Schalm e Noorlander (1957).

Após a realização dos testes de mastite foi coletada amostra de sangue por punção da veia ou artéria coccígea, em sistema de coleta á vácuo com tubos sem anticoagulantes. A glicose foi determinada em glicosímetro portátil Optium Xceed<sup>®</sup> com sangue total, imediatamente após a coleta.

As amostras de sangue foram refrigeradas em isopor térmico com gelo e encaminhadas ao laboratório de Grandes Animais da Universidade Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, foram centrifugadas a 3000 gpm durante 10 minutos e alicotadas em microtubos de polietileno e congelado à -20°C até a análise bioquímica. Foram mensurados os valores séricos de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB), triglicerídeos, colesterol e ácidos graxos não esterificados (NEFA) em aparelho bioquímico automático Mindray bs 120<sup>®</sup>, seguindo as recomendações dos kits

comerciais (Randox<sup>®</sup> para determinar o  $\beta$ HB e NEFA e Labtest<sup>®</sup> para triglicerídeos e colesterol).

As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistical Analysis System (SAS) versão 8.0. Foram efetuadas análise de variância no delineamento inteiramente casualizado, seguidas pelo teste t de Student para amostras independentes a 5% de significância de probabilidade para comparar os grupos G1 (vacas com cetose) e G2 (vacas sem cetose) para as seguintes variáveis: glicose, triglicerídeos,  $\beta$ HB, NEFA e colesterol.

O coeficiente de correlação de Pearson foi realizado para verificar o grau de associação entre as variáveis glicose, triglicerídeos,  $\beta$ HB, NEFA e colesterol e as variáveis presença de mastite, presença de mastite clínica, presença de mastite subclínica, números de tetos com mastite subclínica e a gravidade da mastite subclínica.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, Grupo 1 - 134 vacas portadoras de cetose subclínica com níveis séricos de  $\beta$ HB acima de 0,8 mmol/L e o Grupo 2 - 73 vacas com níveis séricos de  $\beta$ HB abaixo de 0,5 mmol/L. Para Grande e Santos (2003) o valor máximo aceitável é de 0,5 mmol/L, entretanto vacas em início de lactação aceita-se níveis até 0,8 mmol/L, como as vacas do experimento estavam em diferentes fases produtivas, optou-se por excluir excluídas as vacas com níveis séricos de  $\beta$ HB entre 0,5 - 0,8 mmol/L.

Das vacas avaliadas 4,85% (19/ 391) apresentaram mastite clínica e 44,50 % (174/ 391) mastite subclínica, dados próximos aos encontrados por Vieira et al. (2013) 47,68% no município de Alegre-ES e Guerson (2015) na microrregião do Caparaó Capixaba 48,34 %, e menores que os encontrados por Martins et al. (2010) na microrregião de Cuiabá-MT, com índices de 5,8% para a forma clínica e 65% para a subclínica.

Em relação a cetose subclínica ( > 0,8 mmol/L) a ocorrência foi de 34,27% (134/ 391) resultado semelhante aos 34% citado por Barbosa et al. (2009) e superior aos 24% encontrado por Garcia et al. (2011) ao avaliarem vacas Holandesas múltiparas na região de Taquari-RS. Uma possível causa da elevada ocorrência de cetose subclínica na microrregião do presente estudo pode estar relacionada com a

baixa precipitação pluviométrica que ocorreu durante o período estudado, fato que gerou baixo volume e qualidade nas forrageiras tropicais, conseqüentemente redução na produção de ácido propiônico no rúmen, que ocasiona inadequada produção de glicose. A hipoglicemia sofrida pelo animal leva a lipomobilização (NANTES; SANTOS, 2008).

Os resultados das médias e dos desvios padrão encontrados para as dosagens sanguíneas avaliadas estão expressas na tabela 1. Os valores médios de glicose e triglicerídeos para ambos os grupos estão dentro dos parâmetros normais descritos por Kaneko et al. (2008) 45 a 75 mg/dL e 0 a 14 mg/dL, respectivamente. Wittwer (2000) relatou valores de referência entre 104 a 205 mg/dL para o colesterol, estando assim dentro dos parâmetros de normalidade.

Os valores de  $\beta$ HB, variável de escolha para divisão dos grupos, apresentou-se normal no grupo 2 e elevada no grupo 1, indicando quadro de cetose subclínica. Enquanto que os valores de NEFA encontraram-se aumentados para os dois grupos, revelando quadro de lipomobilização, os valores aceitáveis para o metabólito segundo Corrêa; González; Silva (2010) é de até 0,7 mmol/L.

**Tabela 1.** Médias e desvios padrão das variáveis do perfil metabólico energético de vacas leiteiras da microrregião do Caparaó Capixaba para o grupo com cetose (G1) e para o grupo sem cetose (G2) durante o período experimental de fevereiro a julho de 2015.

Variáveis	G1	G2
<b>Glicose (mg/dL)</b>	51,46 $\pm$ 9,20 <sup>a</sup>	50,51 $\pm$ 12,01 <sup>a</sup>
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	128,90 $\pm$ 36,11 <sup>a</sup>	117,52 $\pm$ 31,30 <sup>b</sup>
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	14,01 $\pm$ 4,24 <sup>a</sup>	12,54 $\pm$ 3,19 <sup>b</sup>
<b>BHB (mmol/L)</b>	1,24 $\pm$ 0,77 <sup>a</sup>	0,41 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>
<b>NEFA (mmol/L)</b>	0,81 $\pm$ 0,94 <sup>a</sup>	0,81 $\pm$ 0,96 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ),  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB) e ácidos graxos não esterificados (NEFA).

Os níveis de colesterol, triglicerídeos e  $\beta$ HB apresentaram diferença significativa entre os grupos testados, o que comprova a ocorrência de cetose subclínica no G1. A glicose não apresentou diferença significativa entre os grupos, fato que segundo Campos et al. (2007) pode ser pela glicose apresentar rigoroso controle endócrino. Gonzalez (2000) citou que em casos de déficit energético severo a glicemia se torna muito útil.

Valores do NEFA também não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Segundo Wittwer (2000) o metabólito pode variar durante o dia em

decorrência do tempo de ingestão de alimento, possuindo baixa sensibilidade interpretativa.

O colesterol apresentou médias no G1 maiores que no G2, resultado inesperado. Para Wittwer (2000) vacas cetogênicas e em quadros de balanço energético negativo sofrem diminuição dos valores sanguíneos de colesterol, o aumento pode estar envolvido com elevada ingestão de energia na forma de lipídeos. Bockor (2010) citou que vacas em lactação podem apresentar hipercolesterolemia fisiológica, devido à mobilização lipídica causada pela lactação e aumento na síntese de lipoproteínas plasmáticas. Os níveis de triglicerídeos aumentados no G1 são resultantes da lipólise que ocorre em vacas no BEN, elevando os níveis de triglicerídeos plasmáticos.

Os valores da correlação entre os metabólitos sanguíneos e as diferentes variáveis da mastite estão descritos na tabela 2. As variáveis: colesterol, triglicerídeos e  $\beta$ HB não apresentaram correlação significativa com a presença de mastite, forma de apresentação clínica e subclínica, com o número de tetos acometidos e com a gravidade da mastite subclínica respectivamente.

**Tabela 2** – Coeficiente de correlação de Pearson entre os valores sérios dos metabólitos do perfil energético e a presença de mastite (M), mastite clínica (MC), mastite subclínica (MSC), números de tetos com mastite subclínica (MSCtetos) e a gravidade da mastite subclínica (MSCgrav).

Variáveis	M	MC	MSC	MSCtetos	MSCgrav
<b>Glicose</b>	0.14*	0.05	0.15*	0.25*	0.12
<b>Colesterol</b>	-0.03	-0.04	-0.02	-0.02	-0.02
<b>Triglicerídeos</b>	0.06	-0.10	0.06	0.05	0.04
<b><math>\beta</math>HB</b>	0.03	0.00	0.03	-0.03	0.02
<b>NEFA</b>	0.18	0.06	0,19*	0,19*	0.12

\* indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ),  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HB) e ácidos graxos não esterificados (NEFA).

Resultado semelhante foi encontrado por Duffield et al. (2009) ao avaliarem 1010 vacas holandesas em lactação de 25 propriedades de *free-stall* no Canadá, onde não houve associação entre o aumento dos níveis sanguíneos de  $\beta$ HB e o posterior desenvolvimento de mastite.

Para Sousa (2013) a relação da cetose seja na forma clínica ou subclínica e o seu efeito no desenvolvimento de mastites não é clara e por vezes é controversa, entretanto, Leslie et al. (2000) descreveram que vacas em BEN tem a capacidade de

fagocitose por células polimorfonucleares e macrófagos reduzida, sendo a morte bacteriana também prejudicada pela presença de corpos cetônicos, além do mais há menor quantidade de citocinas (interferons, interleucinas e fator de necrose tumoral) produzidas pelos linfócitos em vacas cetogênicas, assim a capacidade dos leucócitos migrarem para a glândula mamária infectada está reduzida.

Duffield et al. (1998) relataram diferença significativa em vacas até a nona semana pós parto, que em geral tiveram 15,1% de mastite clínica no grupo cetogênico, em comparação aos 10,1% no grupo controle e diferiu dos encontrados desse experimento. Na qual a ocorrência de mastite foi de 30,7 % no G1 e 26,7% no G2. Em contrapartida, Kremer et al. (1993) apesar de citarem maior severidade no grau de mastite em vacas com cetose, não observaram relação entre o número de leucócitos e o  $\beta$ HB.

A glicose e o NEFA foram os únicos metabólicos que apresentaram algum grau de correlação, apesar de fraca, foi positiva para a presença de mastite, forma subclínica, número de tetos acometidos e gravidade da mastite subclínica.

A ausência de correlação dos níveis  $\beta$ HB e as variáveis da mastite podem ser explicadas pela influência de fatores externos. Oliveira et al. (2013) relataram que a mastite sofre alterações mediante a ordem do parto, número de lactações, fase da lactação, níveis de produção e época do ano o que dificulta o isolamento de características específicas.

Além do mais, apesar das propriedades analisadas serem acompanhadas por programa de assistência técnica, nenhuma realizava a linha de ordenha e apenas 58,6% (17/29) realizavam teste para controle e diagnóstico de mastite, assim como a desinfecção dos tetos no pré e pós ordenha, apesar de 51,7% dos proprietários terem destacado a mastite como principal enfermidade de suas propriedades.

## **CONCLUSÃO**

A ocorrência de mastite e de cetose subclínica na microrregião do Caparaó Capixaba é elevada, entretanto sem correlação entre as enfermidades. Há necessidade de programas de controle e prevenção.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, J. D.; SILVA, N. S. ; SILVEIRA, J. A. S.; PINHEIRO, C. P ; SOUSA, M. G. S. ; OLIVEIRA, C. M. C ; MENDONÇA, C. L. ; DUARTE, M. D. Cetose Nervosa em Bovinos, Diagnosticada pela Central de diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade federal do Pará no Período de 2000 a 2009. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 35-40, 2009.

BOCKOR, L. **Indicadores bioquímicos do status nutricional**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. Disponível em: [http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/indicadores\\_nutri\\_luciane.pdf](http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/indicadores_nutri_luciane.pdf) Acessado em: 08 de outubro de 2015.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Determinação de corpos cetônicos na urina como ferramenta para o diagnóstico rápido de cetose subclínica bovina e relação com a composição do leite. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 49-54, 2005.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 241-249, 2007.

CARVALHO, C. T. G. **Perfil metabólico e desempenho produtivo de ovelhas Santa Inês suplementadas com ionóforo durante o período de transição**. 2013. 75 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão- Sergipe, 2013.

CORRÊA, M. N.; GONZÁLEZ, F. D.; SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. Ed. Universitária PREC/UFPEL, 2010. 520p.

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairycattle. **Veterinary Clinics of North America: FoodAnimal Practice**, Philadelphia, n. 16, p. 231-254, 2000.

DUFFIELD, T. F., LISSEMORE, K. D., MCBRIDE, K. D.; LESLIE, K. E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, n. 92, p. 571–580. 2009.

DUFFIELD, T.F., SANDALS, K.E. LESLIE, K. LISSEMORE, B.W. MCBRIDE, J.H. LUMSDEN, P. DICK, A.; BAGG. R. Effect of prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on postpartum energy indicators in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, 1998.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

GARCÍA, A. M. B.; CARDOSO, F. C.; CAMPOS, R.; THEDY, D. X.; GONZÁLEZ, F. H. D. Metabolic evaluation of dairy cows submitted to three different strategies to

decrease the effects of negative energy balance in early postpartum. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v. 31 (Supl.1), p. 11-17, 2011.

GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H., RIBEIRO, L. A. O. (Eds) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porta Alegre, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

GRANDE P. A.; SANTOS T. G. Uso do perfil metabólico na nutrição de vacas leiteiras. **Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudos da Cadeia Produtiva do Leite**. 2003. Disponível em: <http://www.nupel.uem.br/perfilmetabolico-vacas.pdf> Acessado em: 07 de maio de 2014.

GUERSON, Y. B. **Fatores que interferem na composição do leite de vacas mestiças na região do Caparaó- ES**. 2015. 75 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre. 2015.

KREMER, W. J.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; GROMMERS F.J.; SCHUKKEN, Y. H., HEERINGA, R.; BRAND, A.; BURVENICH, C. Severity of Experimental Escherichia coli Mastitis in Ketonemic and Nonketonemic Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3428–3436, 1993.

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

LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F.; SCHUKKEN, Y. H.; LEBLANC, S. J. The influence of negative energy balance on udder health. **National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings**, 2000.

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

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; FILHO, E. S. A. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.

MOREIRA, T. F. **Perfil metabólico de vacas leiteiras no período de transição em sistema semi-intensivo em Minas Gerais no verão e no inverno**. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013. 110p.

NANTES, J. H.; SANTOS, T. A. B. Cetose: Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, v.6, n.10, 2008.

OLIVEIRA, E. J.; BIGNARD, A. B.; FILHO, A. E. V.; PAZ, C. C. P.; CARDOSO, V. L. , FARO, L. Ocorrência da mastite clínica e fatores ambientais que favorecem sua incidência. **Boletim da Indústria Animal**, v.70, n.2, p.132-139, 2013

SCHALM, A. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to developments and the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-207, 1957.

SOUSA, E. A. L. **Influência do tratamento da cetose subclínica em vacas leiteiras no início de lactação**. 83p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2013.

SOUZA, R. C.; SOUZA, R. C.; COSTA, H. N.; SALIM, F. N.; SILVA, F. D. Cetose Bovina. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**. V. 12, n.114, p. 10-13, 2012.

VIEIRA, B. C. R.; LORENZONI, L. S.; SOUZA, M. H.; ALFAIATE, M. B.; XAVIER, T. M. T. Etiologia infecciosa associada à mastite subclínica em bovinos de propriedades rurais no município de Alegre-ES. **Enciclopédia Biosfera**. v. 9, n. 16; p. 1154-1172, 2013.

WITTWER, F. **Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos**. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, p. 9-22.

ZAMBRANO, W. J.; MARQUES JR, A. P. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras do pré-parto ao quinto mês da lactação. **Zootecnia Tropical**, v.27, n.4, p. 475-488. 2009.

## 5. CAPÍTULO 2

### **INFLUÊNCIA DA HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA NA OCORRÊNCIA DE MASTITE EM VACAS LEITEIRAS NA REGIÃO DO CAPARAÓ-ES.**

**Resumo-** A hipocalcemia é uma enfermidade metabólica que surge com alguma frequência em vacas leiteiras de alta produção no periparto, desencadeando menor produtividade e a ocorrência de enfermidades secundárias. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da hipocalcemia na ocorrência de mastites em vacas leiteiras mestiças (Holandês x Zebu) na região do Caparaó-ES. Foram utilizadas 388 vacas leiteiras de 34 propriedades. Os animais foram divididos em grupo 1 (hipocalcêmico) com 116 vacas com níveis séricos de cálcio  $\leq$  a 7,5 mg/dL e grupo 2 (normocalcêmico) com 210 vacas com níveis de cálcio  $\geq$  a 8 mg/dL. Foram realizados teste de Tukey no programa Statistical Analysis System (SAS) versão 8.0 e *Odds Ratio* no programa OpenEpi. A hipocalcemia subclínica ocorreu em 29,89% das vacas avaliadas e teve influência na presença de mastite, com uma probabilidade de ocorrência 2,72 vezes maior, em vacas hipocalcêmicas a ocorrência de mastite subclínica foi de 57,75% e clínica de 3,44%, enquanto no grupo normocalcêmico o acontecimento de mastite subclínica foi de 33,33% e clínica de 3,33%.

**Palavras chaves:** bovinos, cálcio, metabolismo

### **INFLUENCE OF HYPOCALCEMIA SUBCLINICAL THE OCCURRENCE OF MASTITIS IN DAIRY COWS IN CAPARAÓ-ES REGION.**

**Abstract-** The hypocalcemia is a metabolic disease that arises with some frequency in dairy high producing cows in peripartum, triggering lower productivity and the occurrence of secondary diseases. The objective of this study was to evaluate the influence of hypocalcemia in the occurrence of mastitis in crossbred dairy cows (Holstein x Zebu) in Caparaó-ES region. 388 dairy cows properties of 34 were used. The animals were divided into groups 1 (hypocalcemic) with 116 cows with serum calcium levels below/equal 7.5 mg / dl and group 2 (normocalcêmico) with 210 cows with calcium levels greater/equal 8 mg / dL. Statistical analyzes were performed

using the Statistical Analysis System (SAS) version 8.0 and OpenEpi program. The subclinical hypocalcemia occurred in 29,89% of the evaluated cows and had an influence in the presence of mastitis, with a probability of 2.72 times greater, hypoglycemic cows in subclinical mastitis was 57.75% and clinical 3.44%, whereas in group normocalcêmicas the event of subclinical mastitis was 33.33% and 3.33% clinic.

**Key words :** cattle, calcium, metabolism

## INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira no Brasil apresenta taxa de crescimento relativamente constante desde 1974, saiu dos 7,1 bilhões de litros de leite (MAIA et al., 2013) para atingir a produção de 33 bilhões de litros em 2014 (USDA, 2015), crescimento superior aos 400% e que a destacou no contexto do agronegócio nacional. O aumento da produtividade animal associada ao crítico período de transição, na qual há aumento expressivo na demanda de nutrientes para crescimento do feto e produção do leite, associados ao baixo consumo de matéria seca, era aporte insuficiente de nutrientes, predispondo as vacas leiteiras a desenvolverem graves problemas de ordem metabólica, como a hipocalcemia.

O cálcio representa 1,5% do peso corporal do animal, aproximadamente 99% é encontrado nos ossos e dentes na forma de hidroxapatita e o restante nos fluidos corporais (WILKENS et al., 2012). É um mineral necessário para a realização de diversas funções vitais, na síntese do leite, contração muscular, além de desempenhar funções como segundo mensageiro ou co-fator em diversas vias metabólicas intracelulares (BRUNO, 2010).

As diminuições nas concentrações séricas de cálcio em geral são resultado de uma falha nos mecanismos normais de homeostasia. Essa hipocalcemia ocorre com alguma frequência em vacas leiteiras de alta produção no periparto (BASTOS, 2014), uma vez, que a demanda para produção de colostro no pós-parto imediato chega a 2,1 g/L, sendo esta quantidade nove vezes superior a todo cálcio plasmático (WEILLER et al., 2015).

Vacas hipocalcêmicas além de apresentarem menor produtividade são mais propensas a desenvolverem enfermidades secundárias (GOFF, 2006a; REINHARDT

et al., 2011). Segundo Goff e Kimura (2002) vacas com hipocalcemia chegam a ser 8,1 vezes mais predisposta a desenvolverem a mastite, a inflamação da glândula mamária, responsável por alterações físicas, químicas e bacteriológicas no leite e/ou alterações no tecido glandular (RADOSTITS et al. 2002).

Neste contexto o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da hipocalcemia na ocorrência de mastites em vacas leiteiras mestiças na região do Caparaó, Estado do Espírito Santo, Brasil.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi realizado durante o período de fevereiro a julho de 2015 em sete municípios (Lúna, Ibitirama, Dores do Rio Preto, Divino de São Lourenço, Guaçuí, Muniz Freire e Jerônimo Monteiro) da microrregião do Caparaó Capixaba situado ao Sul do estado do Espírito Santo, entre as latitudes de 20°35' e 21°45' S e longitude de 41°31' e 41°55'.

Foram selecionadas 388 vacas mestiças (Holandês x Zebu) de aptidão leiteira, em diferentes fases de lactação, provenientes de 34 propriedades. Todos os animais estavam sob o mesmo regime de manejo e alimentação, sendo todas as propriedades assistidas por um programa de assistência técnica especializada, da qual o sistema de manejo utilizado foi o de produção intensiva em sistema de piquetes rotacionados, água e sal mineral *ad libitum* e com a realização de duas ordenha diárias.

As vacas com mastite clínica foram identificadas por meio dos sinais clínicos mediante a inspeção e palpação da glândula mamária e teste da caneca de fundo escuro, na qual foram eliminados os três primeiros jatos de leite de cada quarto mamário e analisado os subsequentes; e as vacas com mastite subclínica diagnosticadas pelo teste de CMT (California Mastitis Test) e suas reações interpretadas em reação completamente negativa; reação fracamente positiva (+); reação positiva (++) e reação fortemente positiva (+++), de acordo com Schalm e Noorlander (1957).

Após a realização dos testes de mastite foi coletada amostra de sangue por punção da veia ou artéria coccígea, em sistema de coleta á vácuo com tubos sem anticoagulantes. As amostras de sangue foram refrigeradas em isopor térmico com gelo e encaminhadas ao laboratório de Grandes Animais da Universidade Federal

do Espírito Santo, foram centrifugadas a 3000 gpm durante 10 minutos e alicotadas em microtubos de polietileno e congelado à -20°C até a análise bioquímica.

Foram mensurados os valores séricos de cálcio em aparelho bioquímico automático Mindray bs 120<sup>®</sup>, seguindo as recomendações do kit comercial Labtest<sup>®</sup>.

Foram efetuadas no delineamento inteiramente casualizado, seguidas pelo teste de t de Student a 5% de significância de probabilidade para comparar os dois grupos no programa Statistical Analysis System (SAS) versão 8.0.

As associações entre a variável dependente (mastite) e a variável independente (hipocalcemia subclínica) foram estimadas pela razão dos produtos cruzados- *Odds Ratio* (OR) e respectivos intervalos de 95% de confiança. O teste Qui-quadrado de Pearson foi utilizado para verificar a significância das associações. Os cálculos foram feitos no programa OpenEpi disponibilizado pelo site [www.openepi.com](http://www.openepi.com).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, Grupo 1 com 116 vacas portadoras de hipocalcemia subclínica com valores séricos de cálcio  $\leq$  a 7,5 mg/dL e o Grupo 2 normocalcêmico, com 210 vacas com valores séricos de cálcio  $\geq$  a 8 mg/dL.

A hipocalcemia subclínica ocorreu em 29,89% (116/ 388) das vacas avaliadas, dentro da faixa encontrada por Reinhardt et al. (2011) de 25 a 54%, resultado maior que os encontrados por Ortolani (1995) em rebanho de vacas da raça Holandesa e Girolando, no estado de São Paulo com incidência de 4,25 % e inferior aos 50% citados por Oetezel (2012). A elevada ocorrência pode ser explicada pelo fato das propriedades avaliadas não realizarem um pré-parto adequado. Deve-se destacar que se os valores de referência forem considerados menores de 8 mg/dL a ocorrência da hipocalcemia subclínica chega 45,87%, no entanto o valor  $\leq$  a 7,5 mg/dL foi estabelecido para avaliar com melhor intervalo de confiança a influência do mineral na presença de mastite, assim foram excluídas as vacas com níveis séricos de cálcio entre 7,6 – 7,9 mg/dL.

Os resultados da média e dos desvios padrão da dosagem sanguínea do cálcio estão apresentados na tabela 1. Foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos testados. Os valores do G2 encontram-se dentro dos parâmetros de

normalidade, enquanto o G1 apresenta-se abaixo dos valores de referência confirmando a presença de hipocalcemia subclínica.

**Tabela 1** – Média e desvio padrão de cálcio sérico (mg/dL) no G1 (cálcio sérico inferior a 7,5 mg/dL) e G2 (cálcio sérico acima de 7,5 mg/dL) e número de casos de mastite em vacas leiteiras mestiças na microrregião do Caparaó Capixaba.

Variável	G1 (n=116)	G2 (n=210)
Cálcio (mg/dL)	6,65 ± 1,08 <sup>a</sup>	9,08 ± 0,86 <sup>b</sup>
Mastite (nº de casos)	67 <sup>a</sup>	70 <sup>b</sup>

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

No grupo de vacas com níveis de hipocalcemia sérica a ocorrência de mastite subclínica foi de 57,75% (67/ 116) e clínica de 3,44% (4/ 116), enquanto no grupo de vacas normocalcêmicas o acontecimento de mastite subclínica foi de 33,33% (70/ 210) e clínica de 3,33% (7/ 210).

Os valores da associação entre a hipocalcemia subclínica e a presença de mastite estão expressos na tabela 2. As vacas com hipocalcemia subclínica apresentaram 2,72 vezes maior probabilidade de desenvolver mastite que vacas normocalcêmicas pelo teste de *Odds Ratio* (IC 95%). No entanto, o valor de associação foi menor que a predisposição de 8,1 vezes citada por Goff e Kimura (2002) em centrais leiteiras de Nova Iorque com 2.190 animais.

**Tabela 2.** Associação entre a hipocalcemia subclínica e a presença de mastite em vacas mestiças na microrregião do Caparaó Capixaba entre o período de fevereiro a julho de 2015.

Hipocalcemia	Odds Ratio	Intervalo de Confiança (95%)	P*
Sim	2,72	1,71 – 4,36	0.00001890
Não	1,0		

\*Valor de p obtido pelo teste Qui-quadrado de Pearson

Martinez et al. (2012) relataram que a diminuição das reservas de cálcio aumentam o risco das vacas adquirem enfermidades concomitantes, pois a baixa dos valores de cálcio prejudica a resposta celular e estímulo de ativação, contribuindo para uma supressão imunitária. Weiller et al. (2015) explicam que essa influência ocorre, pois, os macrófagos e os linfócitos detectam e combatem os patógenos invasores de maneira inespecífica, por meio da produção de citocinas que iniciam uma resposta pelo mecanismo de quimiotaxia via recrutamento de leucócitos polimorfonucleares ao sítio de infecção, no entanto, para que as células

exercem suas funções de sinalização e proteção é necessário o influxo de cálcio para o seu interior, dentro do retículo endoplasmático.

Além da diminuição da resposta celular e dos estímulos de ativação, a hipocalcemia também diminui a contração da musculatura do esfíncter do teto, possibilitando a entrada de patógenos para o interior da glândula mamária (GOFF, 2006b) e levam as vacas a permanecerem mais tempo deitadas do que os animais sem a enfermidade, isso pode aumentar a exposição do teto aos patógenos ambientais oportunistas (GOFF; KAMURA, 2002).

Outro ponto que influencia o desenvolvimento de problemas secundários a hipocalcemia é o fato das vacas com a enfermidade apresentarem concentrações plasmáticas de cortisol elevadas. Esse cortisol exacerba a imunodepressão que ocorre geralmente após o parto (ESNAOLA, 2011). Normalmente, vacas no pós-parto apresentam aumento de três a quatro vezes na concentração de cortisol, com hipocalcemia subclínica, esse aumento pode ser de cinco a sete vezes e em casos clínicos o aumento nas concentrações plasmáticas chega a ser 10 a 15 vezes superior ao valor normal (GOFF; KAMURA, 2002).

Essa imunossupressão ocorre, pois, o cortisol diminui a proliferação de linfócitos por redução na produção de interleucina-2, interfere na comunicação entre os linfócitos, inibe a migração de granulócitos e a produção de anticorpos (BAUER, 2002; ALVES; NETO, 2007) e inibe a fagocitose de neutrófilos (FARIA 2013).

## CONCLUSÃO

A ocorrência de hipocalcemia subclínica está elevada na microrregião do Caparaó Capixaba, sua presença está associada à mastite e aumenta a probabilidade de ocorrência da enfermidade, representando um fator predisponente em vacas leiteiras.

## REFERÊNCIAS

ALVES, G.J.; NETO, P.J., Neuroimunomodulação: sobre o diálogo entre os sistemas nervoso e imune. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 29, n. 4, p. 363-369, 2007.

BASTOS, A. V. **Níveis séricos de cálcio, fósforo e magnésio em vacas leiteiras com suplementação de sal mineral em alimento atrativo ou *ad libitum***. 37p.

Monografia (Medicina Veterinária), Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal. 2014. 37p.

BAUER, M.; E. Estresse: Como ele abala as defesas do corpo?. **Ciência Hoje**, v. 30, n. 179, p. 20-25, 2002.

BRUNO, R. G. S. Nutrition and Reproduction in Modern Dairy Cows. **Anais... Mid-South Ruminant Nutrition Conference**, p. 51–56. 2010.

ESNAOLA, G. S. **Controle da hipocalcemia puerperal em bovinos leiteiros**. 2011. p. 44. Monografia (Medicina Veterinária), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

FARIA, R. D. **Efeitos da infusão de células tronco mesenquimais sobre a cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar imunossuprimidos com dexametasona**. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade de Vila Velha, Vila Velha, Espírito Santo, 2013, 71p.

GOFF, J. P. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1292-1301, 2006b.

GOFF, J. P.; KIMURA, K. Metabolic Diseases and Their Effect on Immune Function and Resistance to Infectious Disease. **Anais... Proceedings of the 41 st Annual Meeting of National Matistis Council**. 2002.

GOFF, J.P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, p. 237-257, 2006a.

HORST, R.L.; GOFF, J.P.; McCLUSKEY, B.J. Prevalence of subclinical hypocalcemia in US dairy operations. **Journal of Dairy Science**, v.86, p. 247, 2003.

MAIA, G. B. S.; PINTO, A. R.; MARQUES, C. Y. T.; ROITMAN, F. B.; LYRA, D. D. **Produção leiteira no Brasil**. Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social - BNDES Setorial 37, p. 371-398. 2013.

OETZEL, G.R.; e MILLER, B.E. Effect of oral calcium bolus supplementation on early lactation and milk yield in commercial herds. **Journal of Dairy Science**, v.95, p. 7051-7065, 2012.

ORTOLANI, E. L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia de vacas leiteiras. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 47, n. 6, p. 799-808, 1995.

Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2002, 1737p.

REINHARDT, A.; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**. v. 188, n. 1, p. 122-124, 2011.

SCHALM, A. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to developments and the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-207, 1957.

USDA - **United States Departamento of Agriculture**. 2015. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/> Acessado em: 08 de julho de 2015.

WEILLER, M. A. A.; FEIJÓ, J. O.; PEREIRA, R. A.; CORREA, M. N.; DEL PINO, F. A. B.; RABASSA, V. R.; BRAUNER, C. C. Hipocalcemia subclínica e sua relação com a imunidade em vacas leiteiras: Uma Revisão. **Science and Animal Health**. v.3, n.1, p. 78-93, 2015.

WILKENS, M. R.; OBERHEIDE, I.; SCHRÖDER, B.; AZEM, E.; STEINBERG, W.; BREVES, G. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D-3 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.