

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Efeito da dieta aniônica por diferentes períodos sobre o metabolismo de vacas
leiteiras durante o periparto**

Camila Pizoni

Pelotas, 2017

Camila Pizoni

**Efeito da dieta aniônica por diferentes períodos sobre o metabolismo de vacas
leiteiras durante o periparto**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Marcio Nunes Corrêa
Coorientador: Viviane Rohrig Rabassa

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P695e Pizoni, Camila

Efeito da dieta aniônica por diferentes períodos sobre o metabolismo de vacas leiteiras durante o parto / Camila Pizoni ; Marcio Nunes Corrêa, orientador ; Viviane Rohrig Rabassa, coorientadora. — Pelotas, 2017.

51 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Dieta pré-parto. 2. Hipocalcemia. 3. Proteínas de fase aguda. 4. Pós-parto. I. Corrêa, Marcio Nunes, orient. II. Rabassa, Viviane Rohrig, coorient. III. Título.

CDD : 636.2

Camila Pizoni

Efeito da dieta aniônica por diferentes períodos sobre o metabolismo de vacas
leiteiras durante o periparto

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em
Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária,
Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 14/02/2017

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Félix Hilario Diaz González
Doutor em Bioquímica e Fisiologia Animal pela Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Jorge Schafhäuser Junior
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Rogério Fôlha Bermudes
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dedicatória
À minha família

Agradecimentos

Primeiramente agradecer a Deus por me dar força e paciência para seguir e não desistir nunca.

Aos meus pais Lúdia e Ibanor, por sempre terem me apoiado e me auxiliado nesses dois anos de mestrado e que mesmo de longe nunca deixaram faltar nada.

Ao meu marido Fabricio por ter estado ao meu lado em todos os momentos, segurando as pontas sempre que precisei.

À Minha filhinha Aurora que a cada dia me motiva a crescer e ser uma pessoa melhor e que todos os dias me faz sentir a pessoa mais importante do mundo (mal sabe ela que esse papel já tem dona).

Aos meus sogros Ângela e Soldiney e a minha comadre Lúdia que cuidaram da Aurora me ajudando a concluir o mestrado.

À minha irmã Carolina que nunca negou um pedido desesperado de ajuda em algum abstract além de me ajudar com a Aurora num período crítico da escrita da dissertação.

À minha madrinha Didi que mais de uma vez largou suas atividades e viajou quase 700km para nos ajudar com a pequena e permitir que eu seguisse estudando.

Aos meus compadres Sabrina e Vitinho e meus sobrinhos Gabi, Anita e Tito que também ajudaram muito nos cuidados com a Aurora num período crucial do percurso.

Ao meu orientador Marcio e minha coorientadora Viviane por toda orientação e amizade que construímos em seis anos de convívio e pela compreensão em alguns momentos em que tive que me ausentar das atividades.

À minha colega e amiga Josiane, que foi minha companheira de experimento e depois minha "amiga de barriga" por ter me ajudado tanto desde a parte de campo, laboratório, escrita, discussões...enfim...todas as partes da construção desse mestrado.

Às minhas amigas Claudia, Patrícia, Thais, Paula e os amigos Joao e Rodrigo por tornarem os dias mais leves fazendo rir quando era hora e ajudando a construir uma discussão se necessário.

A todos os colegas do NUPEEC que de alguma forma contribuíram para minha formação e como pessoa.

Muito obrigada!

Resumo

PIZONI, Camila. **Efeito da dieta aniônica por diferentes períodos sobre o metabolismo de vacas leiteiras durante o parto.** 2017. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Esta dissertação trata sobre o parto de vacas leiteiras, especificamente sobre a hipocalcemia subclínica e a utilização de dieta aniônica como estratégia de prevenção. O primeiro estudo dizia respeito ao uso da dieta por diferentes períodos durante o pré-parto, em vacas induzidas à hipocalcemia subclínica, afim de avaliar o comportamento do cálcio e parâmetros hemogasométricos. Foram utilizadas 9 vacas divididas em três grupos submetidos a indução de hipocalcemia subclínica: G0 (sem dieta aniônica), G11 (11 dias de dieta aniônica) e G15 (15 dias de dieta aniônica). A indução de hipocalcemia foi realizada durante seis horas e os animais foram acompanhados durante setenta e duas horas. Não houve diferença nos parâmetros de cálcio sérico entre os grupos G11 e G15, podendo-se reduzir a utilização da dieta sem prejuízos para 11 dias de fornecimento pré-parto. O segundo estudo tratava-se da avaliação do status imune pós-parto de animais que receberam diferentes dietas cátió-aniônicas no pré-parto. Foram utilizadas 14 vacas divididas em dois grupos: GA (receberam dieta aniônica pré-parto) e GN (receberam dieta neutra pré-parto) e foram avaliadas as concentrações de cálcio sérico e as proteínas de fase aguda pós-parto. Os animais foram monitorados a cada doze horas por 3 dias desde o momento do parto. Os animais que receberam dieta aniônica no pré-parto apresentaram menor ocorrência de hipocalcemia subclínica e isso auxiliou na melhora do status imune. A hipocalcemia ainda é um dos mais importantes transtornos metabólicos do parto, por alterar a síntese de proteínas de fase aguda e estar envolvida na ocorrência de outros distúrbios pós-parto. A dieta aniônica por ser uma ferramenta de prevenção da doença deve ser empregada de modo a não prejudicar ainda mais o status inflamatório dos animais e contribuir com a diminuição dos transtornos do parto possibilitando um menor custo de produção.

Palavras-chave: dieta pré-parto; hipocalcemia; proteínas de fase aguda; pós-parto

Abstract

PIZONI, Camila. **Effect of anionic diet by different periods on the metabolism of dairy cows during peripartum.** 2017. 51f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

This dissertation deals with the peripartum of dairy cows, specifically on subclinical hypocalcemia and the use of anionic diet as a prevention strategy. The first study concerns the diet's use for different periods during prepartum in cows induced to subclinical hypocalcemia in order to evaluate the calcium behavior and hemogasometric parameters. Nine cows were divided into three subclinical hypocalcemia induction groups: G0 (without anionic diet), G11 (11 days on anionic diet) and G15 (15 days on anionic diet). Induction of hypocalcemia was performed for six hours and the animals were monitored for 72 hours. There was no difference in the serum calcium parameters between G11 and G15, and it was possible to reduce the diet's usage without damage to 11 days of prepartum. The second study involved the evaluation of postpartum immune status of animals that received different prepartum cation-anionic diets. Fourteen cows were divided into two groups: GA (prepartum anionic diet) and NG (prepartum neutral diet), post-partum serum calcium and acute phase protein levels were evaluated. The animals were monitored every 12 hours for 3 days from the partum. The animals that received anionic diet in prepartum showed less occurrence of subclinical hypocalcemia and improvements on immune status. Hypocalcemia is still one of the most important metabolic disorders of peripartum as it changes the synthesis of acute phase proteins and it is involved in the occurrence of other postpartum disorders. The anionic diet may be used as a tool to prevent the disease in order to not impair the inflammatory status of the animals and contribute to the reduction of peripartum disorders allowing lower production costs.

Keywords: antepartum diet; hypocalcemia; acute phase proteins; postpartum

Lista de Figuras

Figura 1	Concentrações séricas de cálcio total (A) e ionizado (B) (mg/dL) relativos ao parto de vacas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de dieta aniônica.....	23
Figura 2	Concentração sérica de magnésio (mg/dL) relativo ao parto de vacas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de dieta aniônica.....	24
Figura 3	Concentração sanguínea de HCO_3^- (mmol/L) relativo ao parto de vacas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de dieta aniônica.....	25
Figura 4	Concentração de proteínas séricas totais (mg/dL) (A) e globulinas (mg/dL) (B) relativos ao parto de vacas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de dieta aniônica.....	26

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Ingredientes e composição nutricional da dieta pré-parto.....	19
Tabela 2	Parâmetros bioquímicos e hemogasométricos (média \pm erro padrão da média) de vacas induzidas à hipocalcemia subclínica recebendo dieta aniônica durante o pré-parto por diferentes períodos.....	22

Artigo 2

Tabela 1	Ingredientes e composição nutricional da dieta pré-parto.....	34
Tabela 2	Parâmetros bioquímicos (média \pm erro padrão da média) de vacas no pós-parto que receberam dieta aniônica ou neutra durante o pré-parto.....	37
Tabela 3	Correlação entre os parâmetros bioquímicos de vacas leiteiras.....	38

Sumário

1 Introdução.....	11
2 Objetivos.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 Artigos.....	16
3.1 Artigo 1.....	16
3.2 Artigo 2.....	30
4 Considerações Finais.....	42
Referências.....	43
Anexo.....	50

1 Introdução

A produção leiteira mundial tem aumentado substancialmente nos últimos anos, sendo que em 2016 houve uma projeção de 508 mil toneladas de leite, 1,4% a mais quando comparado ao ano anterior (CONAB, 2016). O Brasil ocupa a 4ª posição no ranking mundial de produção de leite e a Região Sul do país lidera pelo segundo ano consecutivo, sendo responsável por 37% da produção nacional (IBGE, 2016). Este aumento na produção predispõe o rebanho a uma maior taxa de transtornos metabólicos em vacas leiteiras, pois são mais exigidas (Chapinal et al., 2012).

Os transtornos metabólicos ocorrem com maior frequência no período de transição, que compreende três semanas pré e três semanas pós-parto, sendo o momento mais delicado da vida do animal, pois neste período ocorrem importantes alterações endócrinas, metabólicas e nutricionais que exigem do animal uma alta capacidade de adaptação (Drackley et al., 1999; Chapinal et al., 2011, Goff et al., 2014). Nesse período há um aumento das necessidades energéticas e minerais concomitante à redução na ingestão de matéria seca (Weaver et al., 2016).

Dentre os minerais requeridos nessa fase o cálcio é um dos mais importantes, pois está envolvido no crescimento fetal, produção de colostro e leite, além de contração muscular estriada e lisa e atividade celular (Brozos, et al., 2011; Martinez et al., 2012; Kara et al., 2013). Grande parte do cálcio é encontrado nos ossos e dentes na forma de hidroxapatita e o restante nos fluidos corporais (Wilkins et al., 2012A). Do cálcio extracelular, 50% está na forma ionizada (iCa), que é a forma do mineral livre, 45% está ligado as proteínas, principalmente à albumina, e 5% complexado com outros compostos como fosfatos e bicarbonatos, sendo a união destas três formas do mineral disponíveis no organismo chamado de cálcio total (CaT) (Hansen et al., 2000); seus níveis podem variar com a concentração de proteínas e alterações do pH sanguíneo (Wilkins et al., 2013).

A homeostase do cálcio é regulada principalmente por três hormônios: paratormônio (PTH), calcitonina e calcitriol (vitamina D). Também está relacionada com a concentração de outros minerais como o magnésio e o fósforo (Goff, 2000). O

PTH é o hormônio responsável pelo aumento da concentração de cálcio no sangue, sendo ativado pela queda do mineral, mas também por outros fatores como a redução do pH sanguíneo (Brozos et al., 2011). Quando há diminuição do cálcio sérico o PTH age a nível ósseo inibindo a síntese de colágeno pelos osteoblastos aumentando a desmineralização pelos osteócitos e aumentando a osteólise pelos osteoclastos, bem como a taxa de maturação das células precursoras de osteoclastos e osteoblastos (Goff, 2008). A nível renal aumenta a reabsorção de cálcio e sinaliza a ativação da vitamina D, que por sua vez age a nível intestinal aumentando a absorção do mineral (Wilkens et al., 2012B). A calcitonina por sua vez tem ação regulada de forma oposta ao PTH, ou seja, age a nível ósseo inibindo a desmineralização e a nível renal reduzindo a reabsorção de cálcio (Goff, 2014).

A redução do CaT abaixo do fisiológico (8,5 – 10,4mg/dL) é classificada como hipocalcemia subclínica (CaT entre 5,5 e 8,4 mg/dL) ou clínica (CaT menor que 5,5mg/dL) (Goff, 2014), afetando principalmente vacas de alta produção no periparto devido a mobilização do mineral que ocorre para formação fetal, produção de colostro e momento do parto (Lean et al., 2006).

A hipocalcemia clínica envolve a manifestação de sinais como tremores, hipersensibilidade, anorexia, decúbito lateral ou esternal, desidratação, hipotermia, frequência cardíaca aumentada e até a morte (Gonzalez et al., 2014). A hipocalcemia subclínica por sua vez age de forma silenciosa e acaba interferindo em vários processos que envolvem a contração celular, refletindo na motilidade gastrointestinal diminuindo a ingestão de alimento, ocasionando problemas metabólicos, como, síndrome da vaca caída (Brozos et al., 2011), cetose (Kara, 2013), deslocamento de abomaso (Chapinal et al., 2011) e diminuição da contração uterina, causando retenção de placenta (Martinez et al., 2012). Além disso, a queda do cálcio, mesmo a níveis subclínicos pode reduzir a capacidade das células do sistema imune de responder a estímulos, contribuindo para infecções como a mastite e metrite (Kimura et al., 2006; Martinez et al., 2012), devido a sua função na sinalização celular.

Sabendo-se que o mecanismo de homeostase do cálcio demora cerca de 72 horas para tornar-se completamente ativo e que esse período após o parto pode ser decisivo para a saúde e produção da vaca (Goff, 2014), existem estratégias que tentam evitar ou ainda minimizar a ocorrência de hipocalcemia no rebanho e que podem ser adotadas já no pré-parto, como suplementação com vitamina D (Weiss et

al., 2015), aplicação de serotonina (Weaver et al., 2016), dietas pobres em cálcio (Goff, 2008), fornecimento de dieta aniônica (Weich et al., 2013) entre outros.

A dieta aniônica refere-se a uma alimentação rica em ânions recomendada a partir de trinta dias pré-parto com o intuito de causar uma leve acidificação no pH sanguíneo através da mobilização de íons de hidrogênio que irão agir tentando compensar a quantidade de ânions da dieta. O pH ácido ativa o PTH e por consequência o sistema de homeostase do cálcio antes do momento do parto para que quando houver o aumento da demanda do mineral pelas contrações e ejeção do leite já haja cálcio sérico mais facilmente disponível (Goff, 2014).

O potencial aniônico de uma dieta deve ser calculado levando em consideração sua composição de cátions e ânions, que segundo Santos (2011) pode ser afetada por qualquer mineral com carga positiva ou negativa, porém os que mais influenciam esse balanço são aqueles que apresentam maior concentração de cargas em mEq (maior peso atômico associado à menor valência). Dentre os principais cátions destacam-se o sódio (Na^+) e o potássio (K^+), e ânions o enxofre (S) e o cloro (Cl^-). Outros minerais como Ca, Mg e P também influenciam no balanço cátio-aniônico (BCA), mas por suas menores taxas de absorção, eles não são considerados nas equações para cálculo do BCA da dieta (Santos, 2011).

Para o controle da eficácia da dieta aniônica é analisado o pH urinário e preconiza-se que este permaneça entre 5,8 e 6,8; abaixo desses valores pode causar prejuízos ao animal por reduzir mais o pH sanguíneo levando-o a um quadro de acidose metabólica. Ainda, devido a acidificação ruminal, esta dieta pode reduzir a ingestão de matéria seca, que nesse período já pode estar comprometida (Goff, 2008). Além disso sabe-se que a acidificação intracelular exacerbada pode diminuir a função imune visto que limita a entrada de cálcio na célula (Fernandez et al., 2005). A redução do período de fornecimento da dieta seria uma alternativa viável à funcionalidade celular, levando em conta os efeitos deletérios de uma acidificação sanguínea prolongada sobre a imunidade dos animais.

Durante o pré-parto, ocorrem importantes alterações a nível de imunidade ocasionando um aumento na liberação de mediadores inflamatórios também chamados de proteínas de fase aguda (PFA) que são sintetizados no fígado. As PFA podem ser positivas, ou seja, seus níveis aumentam frente a um desafio inflamatório, como a haptoglobina, por exemplo (Schneider et al., 2013); ou negativas, em que seus níveis diminuem durante o processo inflamatório, sendo a

albumina e a paraoxonase os melhores exemplos (Bionaz et al., 2007). Estudos demonstraram que a alteração das PFA mesmo antes do parto pode prever a ocorrência de doenças no pós-parto (Schneider et al. 2013; Krause et al. 2014). As PFA podem ser muito úteis para avaliar mudanças no estado de saúde animal e ainda servem como ferramentas importantes para o gerenciamento e monitoramento da eficácia de tratamentos (Cerón et al., 2005).

Assim, diminuindo o período de fornecimento da dieta aniônica espera-se ter os efeitos desejados sobre o metabolismo do cálcio e imunidade, minimizando os efeitos prejudiciais da dieta, possibilitando um menor dano para saúde dos animais e para a produção.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes períodos de fornecimento de dieta aniônica durante o pré-parto de vacas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, sobre o efeito na mobilização de cálcio e parâmetros hemogasométricos e ainda avaliar o status inflamatório dos animais no pós-parto após receberem dieta aniônica no pré-parto.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar se o comportamento do cálcio e dos parâmetros hemogasométricos sofreram alterações frente a diferentes períodos de fornecimento de dieta aniônica durante o pré-parto de vacas pluríparas;
- Determinar se o status inflamatório pós-parto de vacas foi influenciado por receberem dieta aniônica durante o pré -parto.

3 Artigos

3.1 Artigo 1

Parâmetros hemogasométricos e bioquímicos de vacas pluríparas com hipocalcemia subclínica pré-parto suplementadas com dieta aniônica

Pizoni, C.; Feijó, J de O.; Rabassa, V.R.; Antunes, M.M; Moraes, F.P.; Xavier, E.G.;
Correa, M.N.

Submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

1 **Parâmetros hemogasométricos e bioquímicos de vacas pluríparas com hipocalcemia**
2 **subclínica pré-parto recebendo dieta aniônica**

3 **Hemogasometric and biochemical parameters of pluriparous cows with subclinical**
4 **hypocalcemia prepartum supplemented with anionic diet**

5
6 **Resumo**

7 O objetivo foi avaliar os parâmetros bioquímicos e hemogasométricos de vacas leiteiras
8 induzidas à hipocalcemia subclínica submetidas a diferentes períodos de fornecimento de
9 dieta aniônica. Nove vacas da raça holandês induzidas à hipocalcemia subclínica no pré-parto,
10 divididas em 3 grupos: G0 = sem dieta aniônica antes da indução; G11 = onze dias de dieta
11 aniônica pré-indução; e G15 = quinze dias de dieta aniônica pré-indução. Foram coletadas
12 amostras de urina semanalmente para avaliação da eficácia da dieta. Amostras de sangue
13 foram coletadas nos dias -1, 0, 1, 2 e 3 (dia 0 = momento da indução) para avaliação de cálcio
14 total, magnésio, albumina e globulina; além de bicarbonato e outros parâmetros
15 hemogasométricos. G0 apresentou maior cálcio total e ionizado que G11 e G15 ($P < 0,01$). O
16 magnésio foi maior em G11 e G15 comparado ao G0 ($P < 0,01$). O bicarbonato foi maior no
17 G0 e G11 comparados ao G15 ($P = 0,05$), assim como as proteínas séricas totais e globulinas
18 ($P < 0,01$). Vacas desafiadas a uma diminuição do cálcio sanguíneo, independente do período
19 de fornecimento da dieta aniônica, apresentam o mesmo comportamento frente ao cálcio
20 sérico, portanto um menor período de fornecimento da dieta seria suficiente para obter efeitos
21 desejados sobre o seu metabolismo.

22 Palavras-chave: dieta pré-parto, cálcio, pluríparas, DCAD.

23
24 **Abstract**

25 The aim was to evaluate biochemical and hemogasometric parameters of dairy cows induced
26 to subclinical hypocalcemia submitted to different periods of anionic diet supply. Nine
27 Holstein Cows induced to subclinical hypocalcemia during prepartum, divided in 3 groups:
28 G0 = without anionic diet pre-induction; G11 = eleven days of anionic diet pre-induction; and
29 G15 = fifteen days of anionic diet pre-induction. Blood samples were collected at days -1, 0, 1,
30 2 and 3 (day 0 = induction moment) in order to evaluate the total calcium, magnesium,
31 albumin and globulin; in addition to bicarbonate and other hemogasometric parameters. G0
32 presented more total and ionized calcium than G11 and G15 ($P < 0,01$). Magnesium indexes
33 were bigger on G11 and G15 compared to G0 ($P < 0,01$). There were higher bicarbonate
34 ($P = 0,05$), total serum proteins and globulin indexes on G0 and G11 compared to G15 (P

35 <0,01). Cows defied to a decrease in blood calcium, despite the anionic diet supply duration,
36 presented the same behavior in terms of serum calcium, therefore a shorter period of diet
37 supply would suffice to obtain the desired effects on the metabolism.

38 Keywords: prepartum diet, calcium, pluriparous, DCAD.

39

40

Introdução

41 A hipocalcemia é uma doença metabólica que acomete principalmente vacas de alta
42 produção no periparto, causada por uma falha do organismo na mobilização de cálcio diante
43 de um aumento na sua demanda (Goff, 2014; Amanlou et al., 2016). A sua forma subclínica
44 pode ser desencadeadora de diversas doenças no pós-parto, como cetose, mastite e metrite,
45 além da queda na produção de leite, redução na fertilidade e descarte precoce de animais
46 (Martinez et al., 2014).

47 Diferentes estratégias vêm sendo estudadas durante o pré-parto afim de prevenir a
48 hipocalcemia, sendo a maioria delas relacionada a alterações da dieta, como o uso de sais
49 aniônicos, redução da concentração de cálcio na dieta, suplementação com vitamina D, entre
50 outras de natureza não específica como controle do escore de condição corporal (ECC) e
51 redução do período de ordenha nos primeiros dias de lactação (Amanlou et al., 2016; Weaver
52 et al., 2016). A dieta aniônica tem sido utilizada a partir de trinta dias pré-parto para driblar as
53 falhas na homeostase do cálcio e fazer com que o mineral seja mobilizado mais rapidamente
54 no pós-parto prevenindo quadros de hipocalcemia (Seifi et al., 2010), porém um estudo
55 realizado com novilhas demonstrou que a utilização de dieta aniônica por onze dias já foi
56 suficiente para que a mobilização de cálcio ocorresse de maneira satisfatória (Pizoni et al.,
57 2017).

58 Sabe-se que o organismo da vaca responde rapidamente à adição de sais aniônicos à
59 dieta. É possível notar a acidificação no pH urinário após 48h de fornecimento assim como o
60 pH sanguíneo que se torna levemente acidificado. Porém acredita-se que demore em torno de
61 cinco a sete dias para que o efeito da redução do pH sanguíneo se manifeste nos mecanismos
62 de homeostase do cálcio (Santos, 2011).

63 Pizoni et al. (2017) encontraram efeito do uso de dieta aniônica por onze dias sobre os
64 níveis de cálcio de novilhas, motivando a avaliação também em pluríparas, visto que esta
65 categoria seria mais predisposta a ter problemas com a mobilização de cálcio e que a
66 acidificação do pH sanguíneo por um período elevado pode ser prejudicial, pois reduz a
67 funcionalidade celular e pode prejudicar a imunidade dos animais (Fernandez et al., 2005;
68 Kimura et al., 2006). Desta forma para compreender o mecanismo de atuação da dieta se faz

69 necessário o controle dos parâmetros hemogasométricos envolvidos no pH sanguíneo, assim
 70 como a avaliação de parâmetros metabólicos que auxiliam na homeostase do cálcio, pois
 71 assim torna-se possível determinar se existe a possibilidade de reduzir o período de
 72 fornecimento de dieta aniônica sem prejuízos na mobilização de cálcio e com isso diminuir os
 73 gastos com dieta pré-parto (Pizoni et al., 2017), bem como o transtorno causado pela
 74 modificação do Ph ruminal(Razzagui et al., 2012).

75 Assim, o objetivo deste estudo foi fornecer dieta aniônica por diferentes períodos no
 76 pré-parto de vacas leiteiras pluríparas induzidas à hipocalcemia subclínica e avaliar seus
 77 parâmetros bioquímicos e hemogasométricos.

78

79 **Materiais e métodos**

80 Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da
 81 Universidade Federal de Pelotas (Cod. .23110).

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

84 Foram utilizadas 9 vacas da raça Holandês, com média de 3 lactações, com escore de
 85 condição corporal médio de 3,0 (Edmonson et al., 1989), entre vinte e um e quinze dias pré-
 86 parto. Os animais eram manejados em sistema de criação semiextensivo com pastagem de
 87 azevém, trevo e cornichão em final de ciclo e recebiam 5 Kg de concentrado divididos em
 88 duas vezes ao dia. Foi realizada análise bromatológica e mineral da pastagem e do
 89 concentrado fornecido para os diferentes grupos (Tab. 1).

90 **Tabela 1** Ingredientes e composição nutricional da dieta pré-parto.

Grupos	Ingredientes		
	Palha de arroz (%)	Pastagem (%)	Concentrado (%) ¹
G0	41,6	58,3	-
G11 e G15	33,3	25,1	41,6
Composição nutricional (%)			
Matéria Seca	82,59	94,23	94,67
Proteína Bruta	7,84	19,98	22,65
FDN ²	74,32	47,41	28,05
FDA ³	54,16	31,02	18,59
Lignina	-	2,95	-
Lipídeos (EE)	1,72	1,9	2,95
Cinzas	17,08	11,5	9,46
Cálcio	-	0,69	1,46
Fósforo	-	0,29	0,82
Potássio	-	3,02	1,26
Magnésio	-	0,18	0,61
Enxofre	-	0,2	1,05

91 ¹Concentrado composto por 33,7% de Milho Moído, 28% de Farelo de Soja, 30% de Farelo de Arroz, 3,3% de Calcário, 4%
 92 de Sal Aniônico e 1% de Premix Vitamínico. ²FDN - Fibra detergente neutro; ³FDA - Fibra detergente Ácido.

93 As vacas foram divididas aleatoriamente em 3 grupos de acordo com o fornecimento
94 da dieta aniônica e todos grupos foram induzidos à hipocalcemia subclínica. O grupo G0
95 (n=3) não havia recebido a dieta aniônica até o momento da indução de hipocalcemia
96 subclínica (DCAD = +10,03 mEq/100g). No grupo G11 (n=3) a indução de hipocalcemia
97 subclínica foi realizada após fornecimento de dieta aniônica por um período de 11 dias
98 (DCAD = - 37,49 mEq/100g). O grupo G15 (n=3), foi composto por vacas que foram
99 induzidas à hipocalcemia subclínica após fornecimento de 15 dias de dieta aniônica (DCAD =
100 - 37,49 mEq/100g).

101 Para avaliação da eficácia da dieta aniônica foram coletadas amostras de urina
102 semanalmente para avaliação do pH urinário (Spanguero, 2004). A urina foi coletada após
103 estímulo manual. O pH foi aferido logo após a coleta utilizando pHmetro de bancada (MPA
104 210, MS Tecnoyon, Brasil).

105 Para realização da indução de hipocalcemia subclínica todos animais foram
106 cateterizados na veia marginal da orelha. Para isso, foi realizada tricotomia da orelha e
107 antissepsia local com solução de PVPI 2%. Posteriormente, o vaso foi puncionado utilizando
108 um cateter intravenoso 20G x 12 (BD I-Cathtm, BD, 1Becton Drive, Franklin Lakes, NJ/
109 EUA). Os três grupos foram submetidos ao protocolo de indução de hipocalcemia subclínica
110 pela infusão endovenosa de uma substância quelante de cálcio (Jorgensen et al., 1999) por um
111 período de 6 horas com manutenção dos níveis de cálcio ionizado (iCa) entre 2,4 e 3,4mg/dL.

112 As coletas de sangue foram realizadas por punção da veia coccígea, utilizando o
113 sistema Vacutainer (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil), sendo coletadas amostras de sangue
114 em um tubo sem anticoagulante (10mL) para análises bioquímicas, dentre elas determinação
115 dos parâmetros de cálcio total (CaT), magnésio (Mg) e albumina (ALB); e outra em tubo
116 (4mL) contendo heparina sódica para a realização das análises hemogasométricas, dentre elas,
117 pressão de gás carbônico (pCO₂), pressão de oxigênio (pO₂), tensão de gás carbônico (TCO₂),
118 saturação de oxigênio (SO₂%), além de iCa, pH sanguíneo, bicarbonato (HCO₃⁻), sódio (Na) e
119 potássio (K).

120 As coletas de sangue foram iniciadas um dia antes do protocolo de indução de
121 hipocalcemia para avaliação do valor basal do cálcio sanguíneo. No dia da indução foram
122 coletadas amostras de sangue imediatamente antes do seu início (0h) e nas horas 6 e 12, sendo
123 que a média entre os momentos 0, 6 e 12 caracterizou o dia 0. Posteriormente as coletas foram
124 realizadas nos dias 1, 2 e 3 a partir da indução. Após a coleta, o sangue coletado sem
125 anticoagulante foi submetido à centrifugação a 1800xg para obtenção de amostras de soro, as
126 quais foram identificadas e congeladas a -70 ° C.

127 As concentrações séricas de CaT, Mg, albumina e proteínas séricas totais foram
128 analisados por colorimetria utilizando kits enzimáticos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil).
129 Para a leitura, foi usado o espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 700Plus, FEMTO
130 Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil). Também foram quantificadas as
131 globulinas (GLOB) através da fórmula (GLOB= proteínas séricas totais – ALB) (Labtest
132 Diagnóstica S.A., Brasil). Para as análises de iCa hemogasometria, pH sanguíneo, HCO_3^- , Na
133 e K foi utilizado o aparelho I-STAT (AbbottLaboratories, Abbott Park, IL EUA).

134 A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através do programa Statistical
135 Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, EUA). Para tal, foi utilizada análise de
136 variância com Mixed Model para comparação dos grupos, coletas e sua interação (grupo x
137 coleta) através do teste de Tukey HSD ($P < 0,05$).

138

139

Resultados e Discussão

140 Na avaliação da eficácia da dieta ao animais que não receberam dieta apresentaram
141 média de pH urinário $8,52 \pm 0,24$, enquanto que os grupos que receberam por 11 e 15 dias
142 apresentaram pH $6,53 \pm 0,15$ e $5,39 \pm 0,04$ respectivamente. Diversos autores trabalharam com
143 níveis entre 5,5 – 6,8, comprovando a acidificação da urina durante o uso da dieta aniônica
144 (Spanghero, 2004, Goff et al., 2014), visto que a baixa do pH urinário se deve a uma tentativa
145 do organismo de tamponar o sangue (Spanghero, 2004).

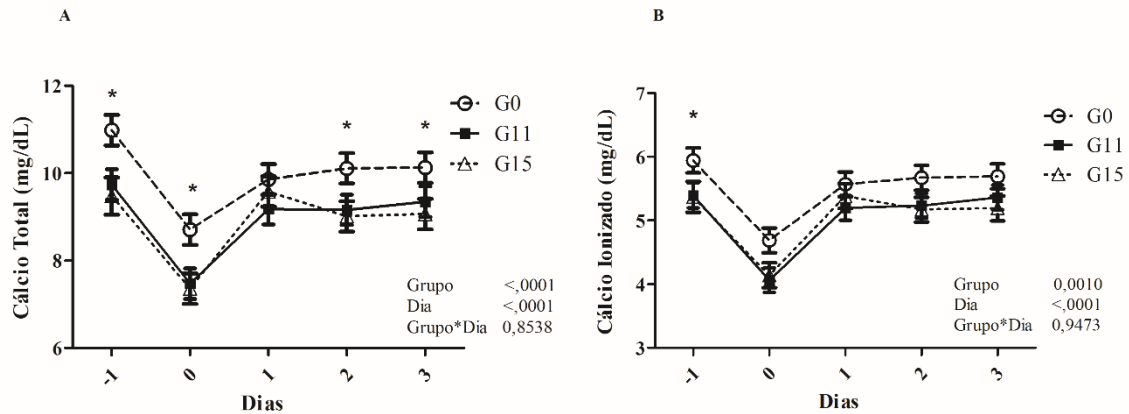
146 Entre os parâmetros bioquímicos avaliados (Tab. 2) houve diferença nos valores de
147 CaT entre os grupos durante todo período ($P < 0,01$), sendo seus níveis maiores no G0, em
148 comparação aos grupos G11 e G15. O iCa também foi diferente entre os grupos ($P < 0,01$),
149 tendo o G0 apresentado níveis maiores que G11 e iguais ao G15 ($P > 0,05$). Na interação
150 grupos x dias os níveis de CaT foram maiores no G0 ($P < 0,01$) em relação aos grupos G11 e
151 G15 nos dias -1 e 0 e maiores ($P < 0,05$) que G15 nos dias 2 e 3 (Fig. 1A). Já os valores de iCa
152 foram maiores no G0 ($P < 0,05$) quando comparados ao G11 apenas no dia 0 (Fig.1B). Assim,
153 observou-se que o G0 apresentava maiores concentrações de CaT e iCa desde a primeira
154 avaliação, isso pode ter ocorrido porque os outros dois grupos que estavam recebendo a dieta
155 nesse momento já estariam eliminando mais cálcio na urina e fezes, a fim de evitar uma
156 hipercalcemia. Como visto por Goff et al. (2014) animais que recebiam dieta aniônica
157 excretavam 3g a mais de cálcio que animais que recebiam dieta catiônica. Foi observado
158 também que o G0 não retomou seus níveis iniciais de cálcio até o terceiro dia, enquanto que
159 os grupos G11 e G15 alcançaram suas concentrações de cálcio iniciais já no primeiro dia após

160 a indução, confirmando o efeito da dieta sobre a mobilização de cálcio (Razzaghi et al., 2012;
 161 Weich et al., 2013). Pizoni et al. (2017) observaram em novilhas que os animais que
 162 receberam dieta aniônica por 11 dias apresentaram melhores resultados em comparação com
 163 animais que não receberam ou receberam a dieta por 15 dias, em relação a mobilização de
 164 cálcio, visto que esses animais estavam sendo submetidos a essa alteração mineral pela
 165 primeira vez.

166 **Tabela 2:** Parâmetros bioquímicos e hemogasométricos (média \pm erro padrão da média) de
 167 vacas induzidas à hipocalcemia subclínica recebendo dieta aniônica durante o pré-parto por
 168 diferentes períodos.

Parâmetros	G0	G11	G15	Valor de P		
				Grupo	Dia	Grupo x Dia
Bioquímicos						
Albumina (g/L)	28,2 \pm 0,07	26,7 \pm 0,07	26,7 \pm 0,08	0,13	0,31	0,31
Cálcio Total (mg/dL)	9,95 ^a \pm 0,15	8,97 ^b \pm 0,15	8,89 ^b \pm 0,16	<0,01	<0,01	0,63
Cálcio ionizado (mg/dL)	5,51 ^a \pm 0,08	5,05 ^b \pm 0,08	5,05 ^b \pm 0,09	<0,01	<0,01	0,97
Globulinas (g/L)	54,2 ^a \pm 0,14	55,8 ^a \pm 0,14	49,0 ^b \pm 0,14	<0,01	0,57	0,97
Magnésio (mg/dL)	1,55 ^a \pm 0,07	2,03 ^b \pm 0,07	1,95 ^b \pm 0,08	<0,01	0,38	0,44
Proteínas Totais (g/L)	82,2 ^a \pm 0,11	82,5 ^a \pm 0,11	75,7 ^b \pm 0,11	<0,01	0,06	0,74
Hemogasométricos						
pH (mmHg)	7,35 \pm 0,01	7,35 \pm 0,01	7,33 \pm 0,01	0,69	0,06	0,13
pCO ₂ (mmHg)	44,15 \pm 1,89	40,84 \pm 1,89	35,97 \pm 2,01	0,16	0,20	0,12
pO ₂ (mmHg)	96 \pm 17,2	105,67 \pm 17,72	119,08 \pm 18,79	0,97	0,01	0,14
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	24,76 ^a \pm 0,78	22,67 ^a \pm 0,78	19,29 ^b \pm 0,83	<0,01	<0,01	0,82
Na (mmol/L)	141,83 \pm 0,71	142,08 \pm 0,71	143,38 \pm 0,75	0,30	<0,01	0,37
K (mmol/L)	4,35 \pm 0,10	4,01 \pm 0,10	4,12 \pm 0,11	0,09	0,72	0,53

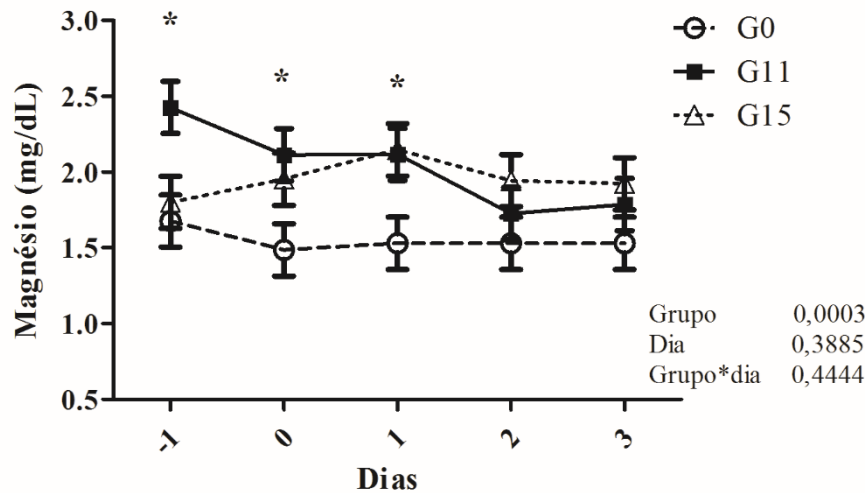
169 ¹G0 -animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica. ²G11 - animais
 170 que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias. ³G15
 171 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15 dias. ^{abc}Letras
 172 minúsculas diferem entre si na mesma linha.



173 **Figura 1.**Concentrações séricas de cálcio total (A) e ionizado (B) (mg/dL) relativo ao parto de
 174 vacas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de dieta
 175 aniônica.

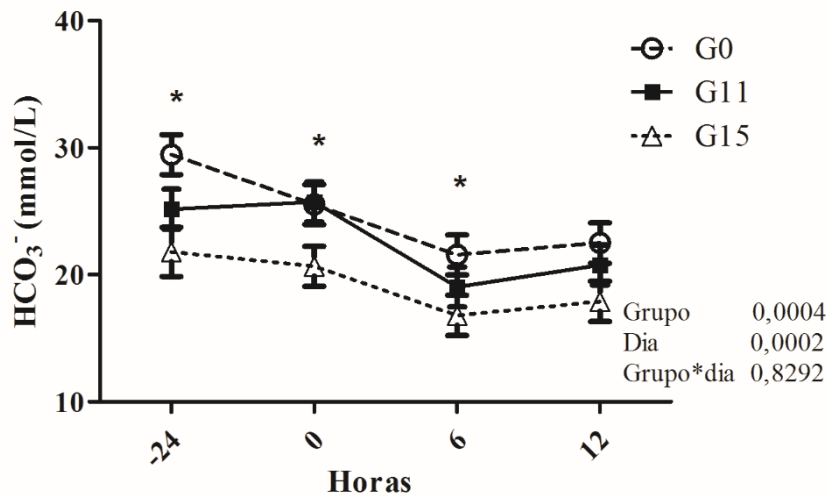
176 G0 -animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica. G11 - animais
 177 que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias. G15
 178 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15
 179 dias*Diferença estatística entre grupos x dia ($P < 0,05$).

180 O magnésio mostrou-se diferente (Fig.2) entre os grupos durante todo período, sendo o
 181 G0 menor que G11 e G15 ($P < 0,01$). Na interação grupo x dias o G0 apresentou os menores
 182 valores quando comparado ao G11 nos dias -1, 0 e 1 ($P < 0,05$), enquanto que em relação ao
 183 G15, foi menor apenas no dia 1 ($P < 0,05$). Os grupos G11 e G15 só foram diferentes no dia -1
 184 ($P < 0,05$). Acredita-se que o PTH possa aumentar o limiar renal de excreção de Mg impedindo
 185 a diminuição dos seus níveis no sangue (González & Silva, 2006; Goff et al., 2014). É
 186 possível que no G11 e G15 o limiar renal da excreção de Mg tenha sido aumentado devido a
 187 atividade do PTH, elevando seus níveis sanguíneos em quase todos momentos, porém a
 188 análise para comprovar este efeito não foi realizada neste trabalho. Outra hipótese é que possa
 189 ter havido uma maior mobilização óssea de Mg no G11 e G15, elevando suas concentrações
 190 séricas.



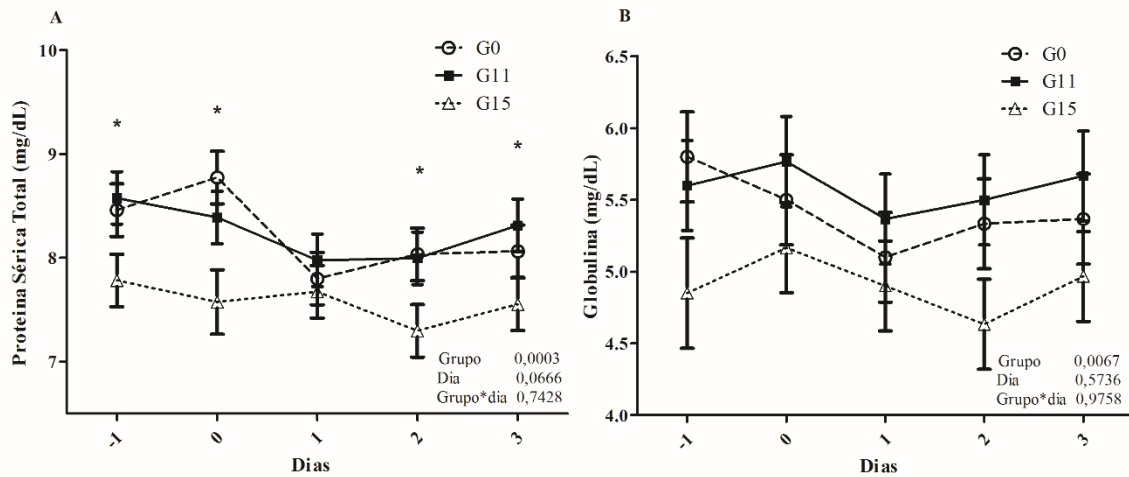
191 **Figura 2.**Concentração sérica de magnésio (mg/dL) relativo ao parto de vacas leiteiras
 192 induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de dieta aniônica.
 193 G0 -animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica. G11 - animais
 194 que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias. G15
 195 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15
 196 dias*Diferença estatística entre grupos x dia ($P<0,05$).
 197

198 Dos parâmetros hemogasométricos avaliados (Tab. 2) houve diferença nos valores de
 199 HCO_3^- entre os grupos durante todo período ($P<0,01$), sendo seus níveis maiores no G0 e
 200 G11 em comparação ao G15. Na interação grupo x dias o HCO_3^- foi maior no G0 ($P<0,01$) em
 201 relação aos grupos G15 nas horas -24, 0 e 6 e apresentou tendência a ser maior também na
 202 hora 12 ($P=0,05$) (Fig.3). Seus valores vão ao encontro do que se espera no fornecimento da
 203 dieta aniônica, ou seja, grupos que não recebem a dieta ou recebem por menos dias tem maior
 204 quantidade de bicarbonato sanguíneo. O bicarbonato é o mais importante tampão extracelular
 205 do organismo, sua diminuição caracteriza um quadro de acidose metabólica e é concomitante
 206 para a redução do pH sanguíneo. Neste estudo não houve diferença entre os valores de pH, o
 207 qual se manteve próximo ao limite inferior de normalidade, isso se deve possivelmente ao
 208 sistema tampão estar cumprindo seu papel não deixando que se acumulem H^+ , destinando-os
 209 juntamente com o bicarbonato para produção de CO_2 e H_2O , conseguindo manter o pH estável
 210 (Martinez et al., 2016).



211 **Figura 3.**Concentração sanguínea de HCO₃⁻ (mmol/L) relativo ao parto de vacas leiteiras
 212 induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a diferentes períodos de dieta aniônica.
 213 G0 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica. G11 - animais
 214 que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias. G15
 215 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15
 216 dias*Diferença estatística entre grupos x dia (P<0,05).

217 Em relação às proteínas séricas totais(Fig.4A) foi possível observar que G0 e G11
 218 apresentaram maiores valores quando comparados ao G15 (P>0,01), enquanto que os valores
 219 de albumina não diferiram entre os grupos; a concentração de GLOB (Fig. 4B), bem como as
 220 proteínas séricas totais, mostrou-se maior nos grupos G0 e G11 em comparação ao G15
 221 (P>0,01). Acredita-se que os animais do G15 apresentaram os menores valores de proteínas
 222 séricas totais, devido a dieta aniônica poder estar causando acidificação ruminal e com isso
 223 reduzido a IMS (Razzaghi et al., 2012), por consequência diminuindo o consumo de
 224 proteínas, que como visto por Kaneko et al. (2008) pode afetar as concentrações de proteínas
 225 séricas totais nesse período. Porém a avaliação de consumo não foi realizada neste estudo.



226 **Figura 4:**Concentração de proteínas séricas totais (mg/dL) (A) e níveis de globulinas (mg/dL)
 227 (B) relativas ao parto de vacas leiteiras induzidas à hipocalcemia subclínica, submetidas a
 228 diferentes períodos de dieta aniônica.

229 G0 -animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica sem adição de dieta aniônica. G11 - animais
 230 que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após já estarem recebendo a dieta aniônica há 11 dias. G15
 231 - animais que passaram por indução à hipocalcemia subclínica após receber a dieta aniônica há 15
 232 dias*Diferença estatística entre grupos x dia ($P < 0,05$).

233 Em um estudo realizado por Weich et al. (2013) foi observado o comportamento pós-
 234 parto de vacas que receberam dieta aniônica 42 e 21 dias antes do parto, demonstrando que os
 235 dois períodos de suplementação se comportaram da mesma forma no pós-parto e não foram
 236 eficientes em prevenir a hipocalcemia subclínica. Considerando os resultados encontrados
 237 neste trabalho sobre a mobilização de cálcio e a interferência da dieta fornecida no sistema
 238 tampão do organismo fica claro que o uso da dieta aniônica por um período de onze dias seria
 239 igualmente eficiente quando comparado a quinze dias de fornecimento e ainda causaria
 240 efeitos mais sutis a nível de tamponamento sanguíneo, assim como observado em novilhas
 241 por Pizoni et al., (2017). Com isso, o uso da dieta por um período reduzido seria capaz de
 242 diminuir o custo de produção.

243

244

Conclusão

245

246

247

248

Concluimos que vacas pluríparas desafiadas a uma diminuição do cálcio sanguíneo apresentaram o mesmo comportamento frente à homeostase do cálcio, independente do período de fornecimento da dieta aniônica, portanto onze dias de fornecimento da dieta seria suficiente para obter os efeitos desejados sobre o metabolismo do cálcio.

Referências Bibliográficas

249

250 AMANLOU, H. AKBARI, AP.; FARSUNI, NE.; SILVA-DEL-RÍO, N. Effects of
251 subcutaneous calcium administration at calving on mineral status, health, and production of
252 Holstein cows. *J. Dairy Sci*, V.99, p.1-12, 2016.

253

254 EDMONSON, AJ. LEAN, IJ.; WEAVER, LD. et al. A Body Condition Scoring Chart For
255 Holstein Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*,V. 72, n.1, 1989.

256

257 FERNANDEZ, R; GIEBISCH, G; GEIBEL, JP. Intracellular Ca²⁺ modulates H⁺ ATPase
258 activity in intercalated cells from mouse cortical collecting duct (CCD). *FASEB Journal*, V.
259 19, p.139, 2005.

260

261 GONZÁLEZ, FHD; SILVA, SC. *Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária*. 2.ed. Porto
262 Alegre. UFRGS. 2006. 364p.

263

264 GOFF, JP. Calcium and Magnesium Disorders. *Vet. Clin. North Am. FoodAnim. Pract.*, V.
265 30, p. 359–381, 2014.

266

267 GOFF, JP; LIESEGANG, A; HORST, RL. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A
268 hypocalcemia and milk fever risk factor. *J. Dairy Sci.*, V. 97, p.1520-1528, 2014.

269

270 JAIN, NC. *Essentials of veterinary hematology*. 1ed, Philadelphia: LEA & FEBIGER, 1993,
271 417p.

272

273 JORGENSEN, RJ.; NYENGAARD, NR.; DANIEL, RCW. et al. Induced hypocalcaemia by
274 Na₂ EDTA infusion: a review. *J. Vet. Med.*, V. 46, p.389–497, 1999.

275

276 KANEKO, JJ.; HARVEY, JW.; BRUSS, ML. (eds.) *Clinical biochemistry of domestic*
277 *animals*. 6ed, San Diego: ACADEMIC PRESS, 2008, 916 p.

278

279 KIMURA, K; REINHARDT, TA.; GOFF, JP. Parturition and hypocalcemia blunts calcium
280 signal in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, V. 89, p. 2588-2595, 2006.

- 281 MARTINEZ N; SINEDINO, LDP; BISINOTTO RS., et al. Effect of induced subclinical
282 hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *J. Dairy Sci.*,
283 V. 97 p.874–887, 2014.
- 284
- 285 MULLIGAN, FJ; O’GRADY, L; RICE, DA.; DOHERTY, ML. A herd health approach to
286 dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim. Reprod. Sci.*, V. 96,
287 p.331-353, 2006.
- 288
- 289 PIZONI, C; FEIJÓ JO; LONDERO, US; PEREIRA, AR; CORRÊA, MN; BRAUNER, CC;
290 XAVIER, EG; DEL PINO, FAB; RABASSA, VR. Parâmetros clínicos, hematológicos e
291 bioquímicos de novilhas com hipocalcemia subclínica pré-parto suplementadas com dieta
292 aniônica. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, (no prelo) 2017.
- 293
- 294 RAZZAGHI, A; ALIARABI1, H; TABATABAEI, MM; SAKI1, AA et al. Effect of Dietary
295 Cation-Anion Difference during Prepartum and Postpartum Periods on Performance, Blood
296 and Urine Minerals Status of Holstein Dairy Cow. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, V. 25, n. 4, p.
297 486 – 495, 2012.
- 298
- 299 REIS, JF; MADUREIRA, KM; SILVA, CPC; BALDACIM, VPA; et al. Perfil sérico proteico
300 de vacas Holandesas no período de transição. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, V.68, n.3, p.587-
301 595, 2016.
- 302
- 303 SANTOS, JEP. *Distúrbios metabólicos*. In: BERCHIELLI T.T., Pires A.V. & Oliveira
304 S.G. (Eds), *Nutrição de Ruminantes*. 2ª ed. Funep, Jaboticabal, 2011, p.459-472.
- 305
- 306 SEIFI, HA; MOHRI, M; FARZANEH, N; NEMATI, H; et al. Effects of anionic salts
307 supplementation on blood pH and mineral status, energy metabolism, reproduction and
308 production in transition dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, V. 89, p. 72-77, 2010.
- 309
- 310 SUCUPIRA, MCA; ORTOLANI, EL. Uso de sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio
311 ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. *Ciência Rural*, V. 33, n.5,
312 p.863-868, 2003.

- 313 SEIFI, HA.; MOHRI M; FARZANEH, N; NEMATI, H; et al. Effects of anionic salts
314 supplementation on blood pH and mineral status, energy metabolism, reproduction and
315 production in transition dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, V. 89, a.1, p. 72-77, 2010.
316
- 317 SPANGHERO, M. Prediction of urinary and blood pH in non-lactating dairy cows fed
318 anionic diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, V. 116, p. 83-92, 2004.
- 319 WEAVER, SR, LAPORTA, J; MOORE, SAE; HERNANDEZ, LL. Serotonin and calcium
320 homeostasis during the transition period. *Domest. Anim. Endocrinol.*, V. 56, p. 147-154, 2016.
321
- 322 WEICH, W; BLOCK, E; LITHERLAND, NB. Extended negative dietary cation anion
323 difference feeding does not negatively affect postpartum performance of multiparous dairy
324 cows. *J. Dairy Sci.*, V. 96, p 5780-5792, 2013.

3.2 Artigo 2

Dieta aniônica na prevenção de hipocalcemia e seu efeito sobre o status inflamatório de vacas leiteiras no período pós-parto

Camila Pizoni; Josiane de Oliveira Feijó; Viviane Rohrig Rabassa; Marcio Nunes Corrêa

Artigo formatado segundo as normas da UFPel

Dieta aniônica na prevenção de hipocalcemia e seu efeito sobre o status inflamatório de vacas leiteiras no período pós-parto

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar a concentração de cálcio e o status inflamatório de vacas leiteiras no período pós-parto submetidas a dietas com diferentes balanços cátion-aniônicos durante o pré-parto. Foram utilizadas 14 vacas pluríparas divididas em dois grupos: GA recebeu dieta aniônica no pré-parto e GN recebeu dieta neutra no pré-parto. Coletas de urina realizadas no pré-parto comprovaram a eficácia da dieta. Amostras de sangue foram coletadas a cada doze horas a partir do momento do parto até setenta e duas horas pós-parto. Foram mensuradas as concentrações de albumina (ALB), cálcio total (CaT), cálcio ionizado (iCa), haptoglobina (HAP), globulina (GLOB), paraoxonase (PON-1) e proteínas séricas totais, além da ocorrência de hipocalcemia subclínica. Não houve diferença entre os valores de CaT, iCa e HAP entre os grupos. Os valores de ALB, GLOB e proteínas séricas totais foram menores no GA quando comparados ao GN ($P < 0,05$) enquanto os valores de PON-1 foram maiores no GA comparados ao GN ($P < 0,05$). Os animais do GA apresentaram 33,3% de hipocalcemia subclínica durante o período avaliado contra 66,7% do GN ($P < 0,05$). O fornecimento de dieta aniônica diminuiu a ocorrência de hipocalcemia subclínica em vacas pluríparas e com isso melhorou o status inflamatório dos animais.

Palavras – chave: Pós-parto, pluríparas, DCAD, proteínas de fase aguda

Abstract

The aim of the study was to evaluate the inflammatory status of dairy cows submitted to diets with different cation-anionic balances during prepartum. Fourteen pluriparous cows were divided into two groups: GA received an anionic diet in the prepartum and GN received a neutral diet in prepartum. Prepartum urine collections proved the efficacy of the diet. Blood samples were collected every 12 hours from the partum to 72 hours postpartum. The albumin (ALB), total calcium (CaT), ionized calcium (iCa), haptoglobin (PAH), globulin (GLOB), paraoxonase (PON) and total serum proteins concentrations were measured, as well as the occurrence of subclinical hypocalcemia. There was no difference between the CaT, iCa and HAP values between groups. ALB, GLOB, and total serum protein values were lower in GA when

compared to NG ($P < 0.05$), while PON-1 values were higher in GA compared to NG ($P < 0.05$). The GA animals presented 33.3% subclinical hypocalcemia during the evaluated period against 66.7% of GN ($P < 0.05$). The supply of anionic diet decreased the occurrence of subclinical hypocalcemia in pluriparous cows and, with this, improved the inflammatory status of the animals.

Keywords: postpartum, pluriparous, DCAD, acute phase proteins

Introdução

O período de transição para vacas leiteiras é o momento mais delicado da sua vida produtiva, pois passam de um estado gestacional não lactante para não gestacional lactante. Essa mudança ocasiona importantes alterações endócrinas, metabólicas e nutricionais devido ao aumento no requerimento de energia que deve ser direcionada para o crescimento fetal e lactogênese (Chapinal et al., 2011; Esposito et al., 2014), e a redução da ingestão de matéria seca (IMS) relacionada às mudanças físicas, comportamentais, metabólicas e hormonais (Allen et al, 2005; Grummer et al, 2004).

A redução na ingesta aliada ao aumento do requerimento energético e mineral faz com que o animal se torne suscetível a diversos distúrbios metabólicos (Weaver et al., 2016). Um dos mais importantes é a hipocalcemia subclínica, ocasionada pela redução das concentrações séricas de cálcio. O cálcio está envolvido em processos cruciais do pré-parto, como crescimento fetal, produção de colostro e leite, além da contração muscular que auxilia o parto (Brozos, et al., 2011; Kara et al., 2013).

A hipocalcemia contribui para a imunossupressão, pois, reduz a entrada de cálcio nas células de defesa, reduzindo sua atividade celular (Martinez et al., 2014). Este quadro de imunossupressão também é exacerbado pelo aumento na liberação de mediadores inflamatórios também chamados de proteínas de fase aguda (PFA). As PFA são sintetizadas no fígado e podem ser classificadas em positivas, como a haptoglobina (HAP) (Schneider et al., 2013A), ou negativas, como a albumina (ALB) e paraoxonase (PON) (Bionaz et al., 2007), de acordo com o aumento ou diminuição de seus níveis durante a resposta inflamatória. Alterações na concentração das PFA podem estar relacionadas a baixa funcionalidade hepática (Bertoni et al., 2008), redução na fertilidade (Krause et al., 2014), ocorrência de mastite (Colla et al., 2009;

Costa et al., 2007), doenças uterinas (Schneider et al. 2013A) e também doenças subclínicas (Grönlund et al. 2005).

Afim de tentar minimizar a ocorrência de transtornos causados pela queda de cálcio sérico no pós-parto, diferentes estratégias podem ser utilizadas (Amanlou et al., 2016; Weaver et al., 2016), dentre elas, a dieta aniônica pré-parto. A adição de ânions como cloro e enxofre à dieta pré-parto tem o objetivo de ativar o mecanismo de homeostase do cálcio. O organismo tenta compensar o excesso de ânions mobilizando H^+ , que induz na vaca uma leve acidose metabólica e por consequência ativa o paratormônio (PTH) que irá atuar a nível ósseo aumentando a resorção óssea; e a nível renal ativando a vitamina D3 (1,25(OH)₂D₃) que irá aumentar a absorção intestinal de cálcio elevando a quantidade do mineral no sangue (Goff, 2014).

Assim, a hipótese deste estudo é que vacas submetidas a dieta aniônica no período pré-parto tenham menor ocorrência de hipocalcemia subclínica, tendo assim uma diminuição dos efeitos deletérios da baixa do cálcio sobre a imunidade, medido através das proteínas de fase aguda. O objetivo do estudo foi avaliar a concentração de cálcio e o status inflamatório de vacas leiteiras no período pós-parto submetidas a dietas com diferentes balanços cátion-aniônicos durante o pré-parto.

Materiais e métodos

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

Foram utilizadas 14 vacas da raça Holandês, com média de 3 a 5 lactações, em sistema de criação semi-extensivo. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos de acordo com o fornecimento da dieta aniônica. O grupo GA (n=7) recebeu dieta aniônica por quinze a vinte e um dias pré-parto (DCAD = -27,13 mEq/100g MS), enquanto o GN (n=7) recebeu dieta neutra nesse mesmo período (DCAD: -3,25mEq/100g MS). Amostras de urina foram coletadas no pré-parto através de estímulo manual para verificação da eficácia das dietas (Spanguero, 2004) através da análise do pH realizado com o pHmetro de bancada (MPA 210, MS Tecnoyon, Brasil), sendo analisado de 3 em 3 dias a partir do início do fornecimento da dieta. A análise bromatológica e mineral da dieta fornecida para os diferentes

grupos foi realizada através do método de *Near Infrared spectroscopy* (NIRS) e análise química respectivamente (Juniper et al., 2006) (Tabela 1).

Tabela 1: Ingredientes e composição nutricional da dieta pré-parto.

Ingredientes (%)	Palha de arroz	Pastagem	Concentrado A*	Concentrado N*	Silagem
Dieta Aniônica	33,3	25	41,6	-	-
Dieta Neutra	16,8	8,3	-	41,6	33,3
Composição Nutricional (%)					
Matéria Seca	82,59	94,23	94,67	93,72	33,22
Proteína Bruta	7,84	19,98	22,65	22,78	6,35
FDN ¹	74,32	47,41	28,05	16,60	31,95
FDA ²	54,16	31,02	18,59	9,70	3,91
Lignina	-	2,95	-	-	7,76
Lipídeos (EE)	1,72	1,90	2,95	7,55	3,78
Cinzas	17,08	11,50	9,46	12,14	4,32
Cálcio	-	0,69	1,46	1,73	0,18
Fósforo	-	0,29	0,82	1,26	0,23
Potássio	-	3,02	1,26	1,30	0,97
Magnésio	-	0,18	0,61	0,73	0,18
Enxofre	-	0,20	1,05	0,90	0,10

Concentrado A: composto por 33,7% de Milho Moído, 26% de Farelo de Soja, 28% de Farelo de Arroz, 3,3% de Calcário, 4% de Sal Aniônico e 1% de Premix Vitamínico. Concentrado N: mesma composição do A, porém com 2,5% de Sal Aniônico¹ FDN - Fibra detergente neutro; ² FDA - Fibra detergente Ácido;

As coletas de sangue foram realizadas por punção da veia coccígea, utilizando o sistema Vacutainer (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil), sendo coletadas amostras de sangue em um tubo sem anticoagulante (10mL) para análises bioquímicas, dentre elas determinação dos parâmetros de cálcio total (CaT), proteínas séricas totais, albumina (ALB), globulina (GLOB), haptoglobina (HAP) e paraoxonase (PON-1); e outra em tubo (4mL) contendo heparina sódica para a realização de cálcio ionizado (iCa).

As coletas de sangue foram iniciadas imediatamente após o parto, caracterizando a hora 0 e posteriormente 6, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas pós-parto. Após a coleta, o sangue foi submetido à centrifugação a 1800xg para obtenção de amostras de soro, as quais foram identificadas e congeladas a -70 °C.

A concentração sérica de CaT, proteínas séricas totais e ALB, foram analisados por colorimetria utilizando kits enzimáticos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Para a leitura, foi usado o espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 700Plus, FEMTO Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil), as GLOB foram

quantificadas através da fórmula ($GLOB = \text{proteínas séricas totais} - ALB$) (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil, Ref. 90). Para a análise do iCa foi utilizado o aparelho i-stat (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL USA). A concentração de HAP foi analisada por uma técnica colorimétrica descrita por (Jones e Mold 1984) adaptada por (Schneider et al., 2013) usando um leitor de microplacas (Thermo Plate® TP-Reader, São Paulo, Brasil). A atividade de PON-1 foi analisada pelo método cinético através de um protocolo previamente descrito (Browne et al., 2007) e a leitura realizada no espectrofotômetro de luz ultravioleta (FEMTO Cirrus 80MB, FEMTO Indústria e Comércio de Instrumentos, São Paulo, Brasil).

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através do programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Para tal, foi utilizada análise de variância com Mixed Model para comparação dos grupos, coletas e sua interação (grupo x coleta) através do teste de Tukey HSD. Também foi realizado Qui Quadrado para avaliação de frequência de hipocalcemia subclínica e para testar a correlação de Pearson entre as variáveis paramétricas dentro de cada grupo foi utilizado o procedimento CORR ($P < 0,05$). Foi considerado diferença estatística $P \leq 0,05$.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (Cod.23110).

Resultados e Discussão

Os resultados da verificação do pH da urina ficaram em média 5,9 ($\pm 0,13$) para o GA e 7,4 ($\pm 0,24$) para o GN comprovando a eficácia da dieta aniônica em manter o pH urinário abaixo de 6,0, como encontrado por Goff et al. (2014) utilizando uma dieta aniônica e outra catiônica no pré-parto.

Os resultados das concentrações de cálcio demonstraram que não houve diferença estatística no CaT e iCa entre os grupos durante o período avaliado ($P = 0,27$ e $P = 0,77$, respectivamente) (Tabela 2), ou seja, a dieta não foi capaz de aumentar as concentrações médias de cálcio no GA. Quanto à ocorrência de hipocalcemia, os animais foram avaliados individualmente e notou-se que o GA apresentou 33,3% de ocorrência de hipocalcemia subclínica ($iCa \leq 4 \text{ mg/dL}$) (Goff, 2014) em pelo menos um momento do período de avaliação, enquanto que o GN apresentou 66,7% dos animais com ocorrência de hipocalcemia subclínica ($P < 0,05$).

Como visto por Kimura et al. (2006) e Reinhardt et al. (2011), 47% das vacas apresentam algum grau de hipocalcemia até a segunda lactação mesmo com a utilização de dieta aniônica.

A hipocalcemia pode alterar a síntese de PFA, como demonstrado por Feijó et al. (2017), que encontraram maiores valores de HAP no pré-parto e menor PON-1 no pós-parto de vacas com hipocalcemia subclínica refletindo na redução do escore de condição corporal (ECC) e diminuição da produção de leite. Isso se dá, possivelmente pelo cálcio estar envolvido em diversos processos no organismo animal, como síntese e proliferação celular, diferenciação e motilidade, como segundo mensageiro e cofator enzimático (Goff et al., 2014). Em nosso estudo a dieta aniônica reduziu a ocorrência de hipocalcemia subclínica, o que refletiu positivamente na concentração de PON.

A PON é uma proteína de fase aguda negativa (Bossaert et al., 2012) e é composta por três porções, a PON-1, é encontrada no soro e compõe a maior parte da molécula de PON (Schneider et al., 2013B), já foi descrita como uma enzima antioxidante (Turk et al., 2008) e também relacionada com um melhor desenvolvimento embrionário *in vitro* (Rincon et al., 2016); em animais desafiados com LPS seus níveis reduziram oito horas após o desafio (Campos et al., 2017), demonstrando ser um bom marcador de inflamação. A PON-2 está mais relacionada a atividade intracelular e a PON-3 também encontrada a nível sérico, mas numa concentração cem vezes menor que a PON-1 (Schneider et al., 2013B). Em nosso estudo a PON-1 foi menor no GN em todo período ($P < 0,01$). Esta proteína já teve sua redução no periparto associada à ocorrência de metrite e endometrite no pós-parto (Bionaz et al., 2007; Schneider et al., 2013A). Baseado nesses fatos poderíamos sugerir que o GN seria mais predisposto a desenvolver doenças uterinas no decorrer da lactação e ainda ser mais suscetível ao estresse oxidativo (Turk et al., 2008).

Tabela 2: Parâmetros bioquímicos e proteínas de fase aguda (média \pm erro padrão da média) de vacas leiteiras no pós-parto que receberam dieta aniônica ou neutra durante o pré-parto.

Parâmetros	Dieta aniônica	Dieta neutra	Valor de P		
			Grupo	Dia	Grupo x Dia
Albumina (g/dL)	29,6 ^a \pm 0,04	30,9 ^b \pm 0,04	0,03	0,21	0,53
Cálcio total (mg/dL)	8,71 \pm 0,16	8,97 \pm 0,16	0,27	0,56	0,63
Cálcio ionizado (mg/dL)	4,27 \pm 0,06	4,25 \pm 0,06	0,77	0,98	0,86
Globulina (g/dL)	44,4 ^a \pm 0,09	47,3 ^b \pm 0,08	0,02	0,93	0,98
Haptoglobina (g/L)	0,32 \pm 0,04	0,43 \pm 0,04	0,07	<0,01	0,06
Paraoxonase (U/mL)	83,13 ^a \pm 3,60	69,01 ^b \pm 3,34	<0,01	0,89	0,66
Proteínas Séricas Totais (g/L)	74,1 ^a \pm 0,08	7,83 ^b \pm 0,08	<0,01	0,98	0,90

^{abc}Letras minúsculas diferem entre si na mesma linha.

Ao analisar as proteínas séricas totais foi possível observar que o GN apresentou os maiores valores quando comparado ao GA em todo período ($P < 0,01$). As GLOB também foram maiores em GN em todo período ($P < 0,05$). Acredita-se que a dieta aniônica tenha causado uma acidificação no pH ruminal e com isso diminuição da IMS (Razzagui et al., 2012) refletindo em uma menor quantidade de proteínas consumidas e com isso menor concentração de proteínas no grupo GA (Kaneko et al., 2008). Da mesma forma, a ALB também apresentou menor concentração no GA em todo período ($P < 0,05$), podendo estar refletindo uma condição referente ao pré-parto, visto que sua concentração sérica pode demorar em torno de vinte dias para se alterar devido ao seu tempo de síntese e degradação (González et al., 2000).

Na tabela 3 estão descritas as correlações entre a dieta aniônica ou neutra com os diferentes parâmetros séricos analisados. No GA houve correlação negativa entre ALB e GLOB ($r = -0,56$, $P < 0,01$), HAP e PON-1 ($r = -0,33$, $P < 0,03$); e correlação positiva entre CaT e iCa ($r = 0,65$, $P < 0,01$), iCa e PON-1 ($r = 0,37$, $P < 0,01$), iCa e Proteínas séricas totais ($r = 0,27$, $P < 0,05$), GLOB e PON-1 ($r = 0,29$, $P < 0,05$), GLOB e Proteínas séricas totais ($r = 0,81$, $P < 0,01$) e PON-1 e Proteínas séricas totais ($r = 0,33$, $P < 0,03$). No GN houve correlação negativa entre ALB e GLOB ($r = -0,26$, $P < 0,05$), ALB e HAP ($r = -0,29$, $P < 0,04$) e GLOB e PON-1 ($r = -0,35$, $P < 0,01$); e correlação positiva entre ALB e PON-1 ($r = 0,57$, $P < 0,01$), CaT e iCa ($r =$

0,81, $P < 0,01$), CaT e PON-1 ($r = 0,26$, $P < 0,05$), iCa e PON-1 ($r = 0,26$, $P < 0,05$) e GLOB e Proteínas séricas totais ($r = 0,89$, $P < 0,01$). As correlações demonstram a influência que um metabólito tem sobre outro. Em nosso estudo observamos que o cálcio exerce algum tipo de função sobre a PON, que corroboraria com os dados já descritos acima. Além das correlações entre as proteínas, que já eram esperadas.

Tabela 3: Correlação entre os parâmetros bioquímicos séricos de vacas leiteiras no pós-parto que receberam dieta aniônica ou neutra durante o pré-parto.

GA	ALB ¹	CaT ²	iCa ³	GLOB ⁴	HAP ⁵	PON-1 ⁶	PST ⁷
Albumina ¹	-	-0,05	0,17	-0,56*	-0,13	-0,04	0,007
Cálcio Total ²	-	-	0,65*	0,12	-0,23	0,04	0,11
Cálcio ionizado ³	-	-	-	0,12	-0,22	0,37*	0,27*
Globulina ⁴	-	-	-	-	-0,008	0,29*	0,81*
Haptoglobina ⁵	-	-	-	-	-	-0,32*	-0,10
Paraoxonase ⁶	-	-	-	-	-	-	0,33*
Proteínas Séricas Totais ⁷	-	-	-	-	-	-	-
GN	ALB ¹	CaT ²	iCa ³	GLOB ⁴	HAP ⁵	PON ⁶	PST ⁷
Albumina ¹	-	0,20	0,24	-0,26*	-0,29*	0,57*	0,18
Cálcio Total ²	-	-	0,81*	0,03	-0,04	0,26*	0,13
Cálcio ionizado ³	-	-	-	-0,09	-0,12	0,26*	0,01
Globulina ⁴	-	-	-	-	-0,02	-0,35*	0,89*
Haptoglobina ⁵	-	-	-	-	-	-0,23	-0,16
Paraoxonase ⁶	-	-	-	-	-	-	-0,09
Proteínas Séricas Totais ⁷	-	-	-	-	-	-	-

* $P \leq 0,05$ ¹²³Números legendam os parâmetros das colunas nas linhas.

Assim, a dieta aniônica utilizada no pré-parto alterou de forma positiva o status inflamatório de vacas no pós-parto por ter reduzido a ocorrência de hipocalcemia subclínica, que como visto por Feijó et al. (2017) é responsável por alterar a síntese de PFA positivas e negativas, ainda que possa ter causado um efeito deletério no metabolismo proteico devido a acidificação ruminal que pode ocasionar (Razzaghi et al., 2012).

Conclusão

O fornecimento de dieta aniônica diminui a ocorrência de hipocalcemia subclínica em vacas pluríparas e com isso melhora o status inflamatório dos animais, medido através dos níveis de proteínas de fase aguda.

Referências Bibliográficas

ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; HARVATINE, K. J. The cow as a model to study food intake regulation. **Annual Review Of Nutrition**, v.25, p.523–547, 2005.

AMANLOU, H.; AKBARI, A. P.; FARSUNI, N. E.; SILVA-DEL-RÍO, N. Effects of subcutaneous calcium administration at calving on mineral status, health, and production of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1-12, 2016.

BERTONI, G.; TREVISI, E.; HAN, X.; BIONAZ, M. Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.3300–3310, 2008.

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.1740–1750, 2007.

BOSSAERT, P.; TREVISI, E.; OPSOMER, G.; BERTONI, G.; VliegHER, S.; LEROY, J. L.M.R. The association between indicators of inflammation and liver variables during the transition period in high-yielding dairy cows: An observational study. **The Veterinary Journal**, v.192, p. 222–225, 2012.

BROWNE, R. W.; KOURY, S. T.; MARION, S.; WILDING, G.; MUTI, P.; TREVISAN, M. Accuracy and biological variation of human serum paraoxonase 1 activity and polymorphism (Q192R) by kinetic enzyme assay. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 310-317, 2007.

BROZOS, C.; MAVROGIANNI, V.S.; FTHENAKIS, G.C. Treatment and control of peri-parturient metabolic diseases: pregnancy toxemias, hypocalcemia, hypomagnesemia. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, p. 105-113, 2011.

CAMPOS, F.T.; RINCON, J.A.A.; ACOSTA, D.A.V.; SILVEIRA, P.A.S.; PRADIE, J.; CORRÊA, M.N.; GASPERIN, B.G.; PFEIFER, L.F.M; BARROS, C.C; PEGORARO, L.M.C.; SCHNEIDER, A. The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on serum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. **Theriogenology**, v. 89, p. 244-249, 2017.

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

COLLA, M. F.; VALLE, S. F.; SECCHI, P.; DUDA, N.; SCALON, M.; DÜRR, J. W.; GONZÁLEZ, F. Valores de haptoglobina plasmática em vacas com diferentes contagens de células somáticas em amostras de leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, Suppl. 1, p. 739-743, 2009.

COSTA, N. A.; SIMÃO, L. C. V.; SANTOS, R. A.; AFONSO, J. A. B.; FAGLIARI, J. J.; CARDOSO, E. C.; SOARES, P. C.; MENDONÇA, C. L. Proteinograma e teores de

cobre, ferro e zinco no soro sanguíneo de ovelhas da raça Santa Inês com mastite experimental por *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 435-442, 2010.

ESPOSITO, G.; IRONS, P.C.; WEBB, E.C; CHAPWANYA, A. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 60-71, 2014.

FEIJÓ J.O.; PEREIRA, R. A.; MONTAGNER, P.; DEL PINO, F. A. B.; SCHMITT, E.; CORRÊA, M. N. Dynamics of acute phase proteins in dairy cows with subclinical hypocalcemia. **Canadian Journal of Animal Science**, (no prelo) 2017.

GOFF, J.P. Calcium and Magnesium Disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 30, p. 359–381, 2014.

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

GRÖNLUND, U.; SANDGREN, C. H.; WALLER, K. P. Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. **Veterinary Research, Les Ulis**, v. 36. p. 191-198, 2005.

GRUMMER, R.R; MASHEK, D.G; HAYIRLI A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, .20, p.447-70, 2004.

JONES G. E., MOULD D. L. Adaptation of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobins to a microtitration plate system. **Research in Veterinary Science**, v. 37, p. 87-92, 1984.

JUNIPER, D. T.; PHIPPS, R. H.; JONES, A. K.; BERTIN, G. Selenium Supplementation of Lactating Dairy Cows: Effect on Selenium Concentration in Blood, Milk, Urine, and Feces. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3544-3551, 2006.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6ed, San Diego: ACADEMIC PRESS, 2008, 916 p.

KARA, C. Physiological and metabolic changes during the transition period and the use of calcium propionate for prevention or treatment of hypocalcemia and ketosis in periparturient cows. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 7, p. 9-17, 2013.

KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J.P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.7, p.2588-2595, 2006.

KRAUSE, A.R.T.; PFEIFER, L.F.M.; MONTAGNER, P.; WEHSCENFELDER, M.M.; SHCWEGLER, E.; LIMA, M.E.; XAVIER, E.G.; BRAUNER, C.C.; SHCMITT, E.; DEL PINO, F.A.B.; MARTINS, C. F.; CORRÊA, M. N.; SCHNEIDER, A. Associations

between resumption of postpartum ovarian activity, uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition period in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v.145, p. 8–14, 2014.

MARTINEZ N.; SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO R. S., et al. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97 p.874–887, 2014.

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

SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M.N.; BUTLER, W.R. Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 269–271, 2013 A.

SCHNEIDER, A.; ABSALON-MEDINA, V.A.; ESPOSITO, G; CORRÊA, M.N.; BUTLER, W.R. Paraoxonase (PON) 1, 2 and 3 Expression in Granulosa Cells and PON1 Activity in Follicular Fluid of Dairy Cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, p. 989–994, 2013 B.

SPANGHERO, M. Prediction of urinary and blood pH in non-lactating dairy cows fed anionic diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 116, p. 83-92, 2004.

TURK, R., JURETIC, D., GERES, D., SVETINA, A., TURK, N., FLEGAR-MESTRIC, Z. Influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA level in transition dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 108, p.98–106, 2008.

WEAVER, S. R.; LAPORTA, J.; MOORE, S.A.E.; HERNANDEZ, L.L. Serotonin and calcium homeostasis during the transition period. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 56, p. 147-154, 2016.

4 Considerações Finais

A hipocalcemia ainda é um dos mais importantes transtornos metabólicos de vacas leiteiras por estar envolvida na ocorrência de outros distúrbios no pós-parto recente. A ocorrência da doença, mesmo na forma subclínica afeta a síntese das proteínas de fase aguda proporcionando a esses animais maiores chances de desenvolverem doenças infecciosas, já que as essas proteínas são preditoras do processo inflamatório.

A dieta aniônica, por ser uma importante estratégia utilizada na prevenção de hipocalcemia deve seguir sendo estudada e utilizada de forma que não prejudique ainda mais o sistema imune das vacas no periparto e sim que consiga contribuir com a diminuição dos transtornos no período de transição.

Além dos benefícios na saúde dos animais, o controle da dieta aniônica possibilitaria um menor custo de produção o que contribuiria ainda mais para o crescimento da cadeia leiteira no país.

Referências

ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; HARVATINE, K. J. The cow as a model to study food intake regulation. **Annual Review Of Nutrition**, v.25, p.523–547, 2005.

AMANLOU, H.; AKBARI, A. P.; FARSUNI, N. E.; SILVA-DEL-RÍO, N. Effects of subcutaneous calcium administration at calving on mineral status, health, and production of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1-12, 2016.

BERTONI, G.; TREVISI, E.; HAN, X.; BIONAZ, M. Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.3300–3310, 2008.

BIONAZ M.; TREVISI E.; CALAMARI L.; LIBRANDI F.; FERRARI A.; BERTONI G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1740-1750, 2007.

BOSSAERT, P.; TREVISI, E.; OPSOMER, G.; BERTONI, G.; VLIEGHER, S.; LEROY, J. L.M.R. The association between indicators of inflammation and liver variables during the transition period in high-yielding dairy cows: An observational study. **The Veterinary Journal**, v.192, p. 222–225, 2012.

BROWNE, R. W.; KOURY, S. T.; MARION, S.; WILDING, G.; MUTI, P.; TREVISAN, M. Accuracy and biological variation of human serum paraoxonase 1 activity and polymorphism (Q192R) by kinetic enzyme assay. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 310-317, 2007.

BROZOS, C.; MAVROGIANNI, V. S.; FTHENAKIS, G. C. Treatment and control of peri-parturient metabolic diseases: pregnancy toxemia, hypocalcemia, hypomagnesemia. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v.27, a.1, p.105-113, 2011.

CAMPOS, F.T.; RINCON, J.A.A.; ACOSTA, D.A.V.; SILVEIRA, P.A.S.; PRADIE, J.; CORRÊA, M.N.; GASPERIN, B.G.; PFEIFER, L.F.M; BARROS, C.C; PEGORARO, L.M.C.; SCHNEIDER, A.The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on sérum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. **Theriogenology**, v. 89, p. 244-249, 2017.

CERÓN L.L.; ECKERSALL P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA S.; Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinics Pathol**, v.34, p. 85-99, 2005.

CHAPINAL, N., M. CARSON, T. F. DUFFIELD, M. CAPEL, S. GODDEN, M. OVERTON, J. E. SANTOS; LEBLANC, S. J. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.10, p.4897-4903. 2011.

CHAPINAL, N.; LEBLANC, J.; CARSON, M.E.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E.; OVERTON, M. W.; DUFFIELD, T. F. Herd-level association of serum 436 metabolites in the transition period with disease, milk production, and early 437 lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science** v.95, n.10, p.5676-5682. 2012.

COLLA, M. F.; VALLE, S. F.; SECCHI, P.; DUDA, N.; SCALON, M.; DÜRR, J. W.; GONZÁLEZ, F. Valores de haptoglobina plasmática em vacas com diferentes contagens de células somáticas em amostras de leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, Suppl. 1, p. 739-743, 2009.

CONAB. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_12_14_04_46_leite_m arco_2016.pdf> Acesso em: 20 de dezembro de 2016.

COSTA, N. A.; SIMÃO, L. C. V.; SANTOS, R. A.; AFONSO, J. A. B.; FAGLIARI, J. J.; CARDOSO, E. C.; SOARES, P. C.; MENDONÇA, C. L. Proteinograma e teores de cobre, ferro e zinco no soro sanguíneo de ovelhas da raça Santa Inês com mastite experimental por *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 435-442, 2010.

DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **Journal of Dairy Science** v.82, p.2259-2273. 1999.

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

ESPOSITO, G.; IRONS, P.C.; WEBB, E.C; CHAPWANYA, A. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 60-71, 2014.

FEIJÓ J.O.; PEREIRA, R. A.; MONTAGNER, P.; DEL PINO, F. A. B.; SCHMITT, E.; CORRÊA, M. N. Dynamics of acute phase proteins in dairy cows with subclinical hypocalcemia. **Canadian Journal of Animal Science**, (no prelo) 2017.

FERNANDEZ, R.; GIEBISCH, G.; GEIBEL, J.P. Intracellular Ca²⁺ modulates H⁺ ATPase activity in intercalated cells from mouse cortical collecting duct (CCD). **FASEB Journal**, v.19, p.139, 2005.

GOFF, J. P. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. The **Veterinary clinics of North America. Food animal practice** v.16, n.2, p.319-337. 2000.

GOFF, J.P. The Monitoring, Prevention, And Treatment Of Milk Fever And Subclinical Hypocalcemia In Dairy Cows. **The Veterinary Journal**, v.176, p.50-57, 2008.

GOFF, J.P. Calcium and Magnesium Disorders. **Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 30, p. 359–381, 2014.

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.3, p.1520-1528, 2014.

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

GONZÁLEZ, F.H.D; SILVA, S.C.da; **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária**. 2.ed. Porto Alegre. UFRGS. 2006. 364p.

GONZÁLES, F.H.D.; CORRÊA, M.N.; SILVA, S. C. **Transtornos Metabólicos nos animais domésticos**; 2ª ed. Porto Alegre: Editora UFRGS. 2014. 518p.

GRÖNLUND, U.; SANDGREN, C. H.; WALLER, K. P. Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. **Veterinary Research, Les Ulis**, v. 36. p. 191-198, 2005.

GRUMMER, R.R; MASHEK, D.G; HAYIRLI A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, .20, p.447-70, 2004.

HANSEN, S. S.; JENSEN, A. L.; JORGENSEN, R. J. Evaluation of a transportable [Ca⁺⁺] and pH analyser and of the impact of different anticoagulants and sampling sites in cattle. **Journal of veterinary medicine**. A, Physiology, pathology, clinical medicine, v.47, n.9, p.541-551, 2000.

IBGE. 2016. Estatística da Produção Pecuária. Rio de Janeiro. 47p. Disponível em:<ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201603caderno.pdf>. Acesso em: 10 de janeiro de 2017.
JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. 1ed, Philadelphia: LEA & FEBIGER, 1993, 417p.

JONES G. E., MOULD D. L. Adaptation of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobins to a microtitration plate system. **Research in Veterinary Science**, v. 37, p. 87-92, 1984.

JORGENSEN, R. J.; NYENGAARD, N. R.; DANIEL, R. C. W., MELLAU, L. S. B.; ENEMARK, J. M. D. Induced hypocalcaemia by Na₂ EDTA infusion: a review. **Journal of Veterinary Medicine**, n.46, p.389–497, 1999.

JUNIPER, D. T.; PHIPPS, R. H.; JONES, A. K.; BERTIN, G. Selenium Supplementation of Lactating Dairy Cows: Effect on Selenium Concentration in Blood, Milk, Urine, and Feces. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3544-3551, 2006.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6ed, San Diego: ACADEMIC PRESS, 2008, 916 p.

KARA, C. Physiological and metabolic changes during the transition period and the use of calcium propionate for prevention or treatment of hypocalcemia and ketosis in periparturient cows. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 7, p. 9-17, 2013.

KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J.P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.7, p.2588-2595, 2006.

KRAUSE, A. R. T.; PFEIFER, L. F.M.; MONTAGNER, P.; WESCHENFELDER, M. M.; SCHWEGLER, E.; LIMA, M. E.; XAVIER, E. G.; BRAUNER, C. C.; SCHMITT, E.; DEL PINO, F. A. B.; MARTINS, C. F.; CORRÊA, M. N.; SCHNEIDER, A. Associations between resumption of postpartum ovarian activity, uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition period in holstein cows. **Animal Reproduction Sciences**, n.145, p.8-14, 2014.

LEAN, I.J.; DEGARIS, P.J.; MCNEIL, D.M.; BLOCK, E. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 669-684, 2006.

MARTINEZ, N.; RISCO, C.A.; LIMA, F.S.; BISINOTTO, R. S.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K.; SANTOS, J.E. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.7158-772, 2012.

MARTINEZ N.; SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO R. S.; RIBEIRO, E. S.; GOMES, G. C.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; RISCO, C. A.; KGALVAO, K. N.; RODRIGUEZ, T. D.; DRIVER, J. P.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.874–887, 2014.

MARTINEZ, N.; BISINOTTO, R. S.; SINEDINO, L. D. P.; DAETZ, R.; LOPERA, C.; RISCO, C. A.; GALVÃO, K.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effects of oral calcium supplementation on mineral and acid-base status, energy etabolites, and health of postpartum dairy cows **Journal of Dairy Science**, n.99, p.1–20, 2016.

MULLIGAN, F. J.; O'GRADY, L.; RICE, D. A.; DOHERTY, M. L. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.331-353, 2006.

PIZONI, C; FEIJÓ JO; LONDERO, US; PEREIRA, AR; CORRÊA, MN; BRAUNER, CC; XAVIER, EG; DEL PINO, FAB; RABASSA, VR. Parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de novilhas com hipocalcemia subclínica pré-parto suplementadas com dieta aniônica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, (no prelo) 2017.

RAZZAGHI, A.; ALIARABI, H.; TABATABAEI, M. M.; SAKI, A. A.; VILIZADEH, R.; ZAMANI, P. Effect of Dietary Cation-Anion Difference during Prepartum and Postpartum Periods on Performance, Blood and Urine Minerals Status of Holstein Dairy Cow. Asian-Aust. **Journal of Dairy Science**, v.25, n.4, p.486–495, 2012.

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

REIS, J.F.; MADUREIRA, K. M.; SILVA, C. P. C.; BALDACIM, V. P. A.; FAGLIARI, J. J.; GOMES, V. Perfil sérico proteico de vacas Holandesas no período de transição. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.68, n.3, p.587-595, 2016.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI T.T., Pires A.V. & Oliveira S.G. (Eds), **Nutrição de Ruminantes**. 2ª ed. Funep, Jaboticabal, p.459-472, 2011. 616p.

SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M. N.; BLUTER, W.R. Acute phase proteins in holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research Veterinary Science**, n.95, p.269-271, 2013A.

SCHNEIDER, A.; ABSALON-MEDINA, V.A.; ESPOSITO, G; CORRÊA, M.N.; BUTLER, W.R. Paraoxonase (PON) 1, 2 and 3 Expression in Granulosa Cells and PON1 Activity in Follicular Fluid of Dairy Cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, p. 989–994, 2013 B.

SEIFI, H. A., MOHRI, M.; FARZANEH, N. ; NEMATI, H.; NEJHAD, S. V. Effects of anionic salts supplementation on blood pH and mineral status, energy metabolism, reproduction and production in transition dairy cows. **Research Veterinary Science**, v.89, p.72-77, 2010.

SUCUPIRA, M.C.A; ORTOLANI, E.L. Uso de sangue arterial e venoso no exame do equilíbrio ácido-básico de novilhos normais ou com acidose metabólica. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.863-868, 2003.

SPANGHERO, M. Prediction of urinary and blood pH in non-lactating dairy cows fed anionic diets. **Animal. Feed Science. Technology**, v.116, p.83-92, 2004.

WEAVER, S. R.; LAPORTA, J.; MOORE, S. A. E.; HERNANDEZ, L.L. Serotonin and calcium homeostasis during the transition period. **Domestic Animal Endocrinology**, n.56, p.S147–S154, 2016.

WEISS, W.P.; AZEM, E.; STEINBERG, W.; REINHARDT, T. A. Effect of feeding 25-hydroxyvitamin D3 with a negative cation-anion difference diet on calcium and vitamin D status of periparturient cows and their calves. **Journal of Dairy Science**, n.98, p.1–13, 2015.

WILKENS, M. R. J.; RICHTER, J.; FRASER, D. R.; LIESEGANG, A.; BREVES, G.; SCHRODES, B. In contrast to sheep, goats adapt to dietary calcium restriction by increasing intestinal absorption of calcium. Comparative biochemistry and physiology. Part A, **Molecular & integrative physiology**, n.163, p.3-4:396-406, 2012^a.

WILKENS, M. R. J.; OBERHEIDE, I.; SCHRODER, B.; AZEM, E.; STEINBERG, W.; BREVES, G. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.1, p.151-164, 2012B.

WILKENS, MRJ; COHRS, I; LIFSCHITZ, AL.; FRASER, D. R.; OLSZEWSKI, K.; SCHRODER, B.; BREVES, G. Is the metabolism of 25-hydroxyvitamin D3 age-dependent in dairy cows **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, n.136, p.44-46, 2013.

WEICH, W.; BLOCK, E.; LITHERLAND, N.B. Extended negative dietary cation anion difference feeding does not negatively affect postpartum performance of multiparous dairy cows. **Journal of Dairy Science.**, v.96, p.5780-5792, 2013.

Anexo



Pelotas, 08 de abril de 2011

De: Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Prof. Marcio Nunes Correa

Faculdade de Veterinária

Senhor(a) Professor(a):

A CEEA analisou o projeto intitulado: “**Resistência a Insulina em ruminantes e sua relação com hipomagnesemia e hipocalcemia**”, processo nº 23110.002563/2011-51 sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste Projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa para posterior registro no COCEPE (Código para Cadastro nº CEEA 2563).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da CEEA

Ciente em:

08/04/2011

Assinatura do Professor Coordenador:

